

Beiträge zur Wertbestimmung einiger Arznei-Drogen

Von der

Eidgenössischen Technischen Hochschule
in Zürich

zur Erlangung der

Würde eines Doktors der Naturwissenschaften

genehmigte

Nr. 494

Promotionsarbeit

vorgelegt von

Edwin Ernst Schlumpf, Apotheker

aus Zürich

Referent: Herr Prof. Dr. R. Eder

Korreferent: Herr Prof. Dr. W. D. Treadwell

Weida i. Thür. 1927

Druck von Thomas & Hubert
Spezialdruckerei für Dissertationen

Leer - Vide - Empty

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Leer - Vide - Empty

Die vorliegende Arbeit wurde im pharmazeutisch-chemischen
Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in
Zürich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Eder ausgeführt.

Meinen verehrten Lehrern

Herrn Prof. Dr. R. Eder

und

Herrn Prof. Dr. W. D. Treadwell

danke ich für ihr freundliches Entgegenkommen bei der Begut-
achtung meiner Arbeit.

Leer - Vide - Empty

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Die Wertbestimmung der Chinarinde	9
Übersicht über die neueren titrimetrischen Bestimmungsmethoden	9
Experimenteller Teil	16
Bestimmungsmethode	26
Die Wertbestimmung der Brechwurzel	29
Bestimmungsmethode	34
Die Wertbestimmung der Hydrastiswurzel	38
Bestimmungsmethode	50
Die Wertbestimmung von Herbstzeitlosensamen	53
Bestimmungsmethode	68
Die Vanillinbestimmung in Vanilleschoten	70
Übersicht über die neueren Methoden zur Vanillinbestimmung . . .	71
1. Gravimetrische Methoden	71
2. Titrimetrische Methoden	72
3. Gravimetrische Fällungsmethoden	73
4. Titrimetrische Fällungsmethoden	74
5. Kolorimetrische Methoden	76
6. Refraktometrische Methoden	78
7. Gasvolumetrische Methoden	78
Eigene Versuche für eine Vanillinbestimmung	78
1. Versuche mit reinem Vanilin	80
2. Versuche mit Vanillefrüchten	92
Methode zur Bestimmung des Vanillins in Vanilleschoten	96
3. Versuche mit Vanillinzucker	98
Methode zur Bestimmung des Vanillins in Vanillinzucker	99
Zusammenfassung	99

Leer - Vide - Empty

Die Wertbestimmung der Chinarinde.

Seit dem Erscheinen der Pharmacopoea Helvetica IV im Jahre 1907 sind zahlreiche Arbeiten über die Alkaloidbestimmung in der Chinarinde veröffentlicht worden. Wir haben es unternommen, diese Arbeiten, soweit sie sich auf titrimetrische Methoden beziehen, durchzusehen und Neuerungsvorschläge, die für eine Pharmacopöe-Methode in Betracht kommen können, nachzuprüfen¹. Dabei hielten wir uns stets an die Forderungen, wie sie an eine moderne Arzneibuchmethode gestellt werden:

1. Ökonomie an Material;
2. einfache und rasche Ausführung;
3. genügende Genauigkeit².

Übersicht über die neueren titrimetrischen Bestimmungsmethoden der Chinarinde.

Die von der Pharmacopoea Helvetica IV aufgenommene Methode zur Bestimmung der Gesamtalkaloide in der Chinarinde ist in ihren Grundzügen das von Fromme³ modifizierte Verfahren von Panchaud⁴ mit folgendem Prinzip:

¹ Von den gravimetrischen Bestimmungen der Chinarinde sehen wir ganz ab, da diese nur nach weitgehender Reinigung der Alkaloide durch wiederholte Ausschüttelungsoperationen gute Resultate liefern. Die so erhaltenen Werte sind meist etwas höher als die auf titrimetrischem Wege erzielten, weil stets noch geringe Mengen Verunreinigungen zur Wägung gelangen. Im Interesse einer beträchtlichen Zeitersparnis ist entschieden die Titrationsanalyse vorzuziehen

² Vgl. H. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, p. 9.

³ G. Fromme, Geschäftsbericht Caesar & Loretz 1905, LXXVIII.

⁴ A. Panchaud, Schweiz. Wochensch. f. Ch. und Ph. 41, 483 (1903).

Überführung der Alkaloide in die Chlorhydrate durch Erwärmen des Rindenpulvers mit verdünnter Salzsäure; Extraktion der durch Natronlauge aus den Chlorhydraten abgeschiedenen Alkaloidbasen mit einem Ätherchloroformgemisch (2 + 1); Abfiltrieren eines aliquoten Teiles des Auszuges und Abdestillieren der Extraktionsflüssigkeit; direkte Titration des Alkaloidrückstandes in verdünnt alkoholischer Lösung mit 0,1 N-Salzsäure und Hämatoxylin als Indikator.

Hebeisen¹ orientierte in einer umfassenden Arbeit über die verschiedenen Arzneibuchmethoden und gelangte auf Grund seiner Untersuchungen zum Schlusse, daß von allen von ihm in Betracht gezogenen derzeitigen Pharmakopöe-Methoden in bezug auf einfache und rasche Ausführung und genügende Genauigkeit das Verfahren der Ph. H. IV allen anderen vorzuziehen ist.

Die Methode des D. A. B. 5 hat mit ihrer mangelhaften Extraktion² einer Reihe von Kritiken und Verbesserungsvorschlägen gerufen, die sich in der Hauptsache mit zwei Fragen beschäftigen: dem Extraktionsmodus und der Indikatorwahl.

Katz³ vertrat die Ansicht, daß Hämatoxylin als Indikator ganz ungeeignet sei, da nach seinen Erfahrungen der Umschlag infolge von Übergangsfärbungen nicht genau festgestellt werden könne. Den von Rupp⁴ neu eingeführten Indikator Methylrot (Dimethylaminoazobenzol-o-carbonsäure) stellte Katz auf dieselbe Stufe wie das Hämatoxylin. Auf Grund der Angaben von Runne⁵ über die Bestimmung der Gesamtsäure in Alkaloidsalzen kam Katz zu einer neuen Methode zur Bestimmung der Chinaalkaloide:

6 g getrocknete und gepulverte Chinarinde werden mit 15 g Chloroform und 5 g einer 5%igen Natronlauge eine halbe Stunde lang geschüttelt. Darauf setzt man 45 g Äther und ca. 1 g Magnesia usta zu, schüttelt kräftig um und filtriert 40 g der klaren Chloroformätherlösung ab. Der Chloroformäther wird bis auf etwa 1 ccm abdestilliert, der Rückstand mit 3×3 ccm Alkohol in ein Schälchen gespült, mit 10 Tropfen offizineller Salzsäure und ca. 0,25 g Kochsalz versetzt und auf dem Wasserbade zur

¹ F. Hebeisen, Dissertation Bern, 1916.

² Vgl. Fromme, Pharmakopöe-Bericht von Caesar & Loretz 1911, 18.

³ J. Katz, Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. **20**, 316 (1910).

⁴ E. Rupp, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 3905 (1908).

⁵ Runne, Apoth.-Ztg. **24**, 662 (1909).

Trockne verdampft. Gegen Ende des Verdampfens sorgt man durch fleißiges Schwenken des Schälchens dafür, daß sich das Kochsalz als feines Kristallmehl in nicht zu großen Kristallen absetzt, und daß die Masse sich möglichst dünn auf dem Boden des Schälchens verteilt. Darauf spült man die an den Wänden des Schälchens befindliche Masse mit Hilfe der Spritzflasche mit Alkohol auf den Boden der Schale und dampft unter fleißigem Umschwenken wiederum ein. Der eingetrocknete Rückstand bleibt noch eine Viertelstunde auf dem Wasserbade oder besser im Wassertrockenschrank stehen. Darauf löst man die Masse in etwas Alkohol und spritzt sie mitsamt dem ungelösten Kochsalz in einen kleinen Erlenmeyerkolben, ergänzt die Flüssigkeit mit Alkohol auf etwa 25 ccm, setzt 5 Tropfen einer 0,2%igen Lösung von Poirriers Blau zu und titriert mit einer alkoholischen 0,1 N-Kalilauge, die man sich ex tempore durch Mischen von 10 ccm N-Kalilauge mit absolutem Alkohol zu 100 ccm hergestellt hat. Die verbrauchten Kubikzentimeter 0,1 N-Kalilauge werden mit 1,62 (halbes Molekulargewicht von Chinin beträgt 162) multipliziert und ergeben durch 4 dividiert den Prozentgehalt der Chinarinde an Alkaloid.

Das gut ausgearbeitete Verfahren besitzt einige Nachteile, die es für eine Arzneibuchmethode nicht empfehlenswert machen. Daß die direkte alkalische Extraktion der Droge nach der Methode des D. A. B. 5 unzulänglich ist, wie die Arbeiten von Fromme¹, Gaze², Linke³ u. a. gezeigt haben, sei nur erwähnt. Dieser Fehler läßt sich durch Kombination mit dem Verfahren der Ph. H. IV, wie schon Fromme⁴ und später Schou⁵ vorgeschlagen haben, vermeiden. Der neuvorgeschlagene Indikator Poirriers Blau ist stark kohlen säureempfindlich und verlangt daher ein rasches Arbeiten. Der Umschlag ist allein scharf bei Titration in stark alkoholischer Lösung, wie man sie nur erreichen kann, wenn alkoholische Lauge zur Verwendung kommt. Vergleichende Untersuchungen von Fromme⁴ ergaben nach der Katzschen Methode konstante aber etwas tiefere Werte.

Wir kommen daher zum Schluß, daß das Katzsche Verfahren vor der Methode der Ph. H. IV. keine nennenswerte Vorteile besitzt, wohl aber viel umständlicher ist und sehr sorgfältiges Arbeiten und eine besondere Normallösung (alkoholische 0,1 N-Kalilauge) verlangt.

¹ G. Fromme, Pharmakopöe-Bericht von Caesar & Loretz 1911, 18.

² R. Gaze, Apoth.-Ztg. 28, 144 (1913).

³ H. Linke, Apoth.-Ztg. 29, 489 (1914).

⁴ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1912, 28.

⁵ Schou, Arch. for Pharmaci og Chemil 1921, 93.

Die von Katz auch erwähnte und kritisierte Oxalatmethode von Florence¹ ist für ein Arzneibuchverfahren zu umständlich, abgesehen davon, daß ein Arbeiten mit ätherischen Normallösungen sehr große Fehlerquellen in sich birgt.

Ein von Kleinstück² vorgeschlagenes Verfahren, das die Alkaloide mit überschüssiger 0,05 N-Pikrinsäurelösung ausfällt und den Überschuß an Pikrinsäure bestimmt, ist äußerst kompliziert. Es wurde von Richter³ bedeutend vereinfacht und verbessert. Außer der Möglichkeit, den von vielen als unsicher empfundenen Umschlag von Hämatoxylin zu umgehen, zeigt es keine weiteren Vorteile vor der Bestimmungsmethode der Ph. H. IV, ist aber zeitraubender und verlangt eine 0,05 N-Pikrinsäurelösung, für die man gegenwärtig keine weitere Verwendung hat. Dasselbe gilt auch für die von Lenci⁴ vorgeschlagene Pikratmethode.

Im Bestreben, die Methode des D. A. B. 5 zu verbessern, gelangte Gaze⁵ zu einer neuen Vorschrift, die als wesentlich neuen Gedanken die Extraktion der Rinde mit Äther-Chloroform unter Zusatz von Alkohol einführt. Das Verfahren lehnt sich im übrigen eng an dasjenige des D. A. B. 5 an und ist ebenso schwerfällig und zeitraubend. Wie Versuche von Frerichs und Mannheim⁶ und auch von Fromme⁷ zeigten, besitzt die Methode von Gaze aber immer noch die Unzulänglichkeit, bei alkaloidreichen Drogen bedeutend tiefere Werte zu ergeben als die Vorschrift von Fromme. Die Verfasser empfahlen daher ebenfalls das von Fromme⁸ im Prinzip schon 1903 angegebene und im Jahre 1905 etwas modifizierte Verfahren.

Daels⁹ empfahl im Gegensatz dazu, die Extraktion der mit Natronlauge alkalisierten Droge mit Chloroform am Rückflußkühler auf dem Wasserbad vorzunehmen. Er bestimmte experimentell

¹ Florence, Bull. Sc. pharmacol. **13**, 365 (1906).

² M. Kleinstück, Pharm. Zentralh. **53**, 643 (1912).

³ E. Richter, Apoth.-Ztg. **27**, 949 (1912); Pharm. Zentralh. **56**, 673 (1915).

⁴ Lenci, Bull. Sc. pharmacol, **23**, 179 (1916).

⁵ R. Gaze, Apoth.-Ztg. **28**, 144 (1913).

⁶ Frerichs und Mannheim, Arch. Pharm. **253**, 130 (1915).

⁷ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1913, 23.

⁸ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1903, XIV; 1905, LXXVIII.

⁹ Daels, Rép. de Pharm. [3] **24**, 409 (1912).

die Menge Natronlauge, die dabei in 100 g Chloroform übergeht und am Schluß als Chinin zur Bestimmung gelangt. Auf Grund dieser Untersuchungen gab er eine Korrekturzahl an.

Dufilho¹ zog in seiner 1914 gegebenen ausführlichen Methode zur Gesamtalkaloid- und Chininbestimmung die saure Extraktion wieder vor. Sein Vorschlag, der im Prinzip auf der Säuremethode von Fromme² basiert, zerfällt in folgende Hauptoperationen, die unseres Erachtens zum Teil überflüssig sind:

1. Überführung der Alkaloide in die Sulfate durch Erwärmen des Drogenpulvers mit stark verdünnter Schwefelsäure.
2. Extraktion der mit Natronlauge freigesetzten Basen mit einem Äther-Chloroformgemisch.
3. Waschen der Äther-Chloroformlösung mit einer gesättigten Natriumsulfatlösung.
4. Abdestillieren einer aliquoten Menge der Alkaloidlösung bei Gegenwart eines genau gemessenen Volumens 0,1 N-Schwefelsäure.
5. Titration der überschüssigen Säure mit 0,1 N-Natronlauge und Lackmus als Indikator.

Mit der Extraktion der Chinaalkaloide befaßten sich Lehmann und Palm³. Nach ihnen soll die alkalische Extraktion mit Chloroform-Äther dieselben Resultate ergeben wie bei vorheriger Säurebehandlung der Droge nach Fromme. Sie arbeiteten ein Verfahren aus zur Bestimmung der „säurelöslichen, kristallinen Alkaloide“. Fromme⁴ gab auf Grund dieser Untersuchungen 1923 ebenfalls eine Methode an, bei der die Droge nur mit Säure, ohne nachfolgende Alkalibehandlung extrahiert wird, und die nach seiner Meinung die Gesamtalkaloide zu bestimmen gestattet:

4 g Rindenzugpulver werden mit einem Gemisch von 38 g Wasser und 2 g Salzsäure in einer Arzneiflasche 10 Minuten in kochendes Wasser gestellt. Vom kochendheißen Auszug werden 25 g (= 2,5 g Rinde) in ein Glas von 200 ccm durch Watte rasch abgelfilert, nach dem Erkalten 20 g Chloroform, 38 g Äther und 5 g Natronlauge (15 %) zugefügt und einige Minuten kräftig geschüttelt. Falls nicht glatte Trennung eintritt, fügt man 2 g Alkohol zu und schüttelt gelinde. Im Falle sofortiger Trennung gibt man 2 g Äther zu, schwenkt um und hebt die wässrige Schicht mit einer

¹ Dufilho, Bull. de la Soc. pharm. de Bordeaux 1914, 53.

² G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1903, XIV; 1905, LXXVIII.

³ Lehmann und Palm, Arch. Pharm. 253, 393 (1915); 258, 85 (1920).

⁴ G. Fromme, Pharm. Zentralh. 64, 57 (1923).

Pipette ab. Die Chloroformätherlösung gießt man durch Watte in einen Erlenmeyerkolben (24 g = 1 g Droge) und destilliert ab. Den Rückstand übergießt man mit 2 ccm Alkohol und dampft ab, dann wird er in 15 g Alkohol heiß gelöst, mit Wasser verdünnt bis zur beginnenden Trübung, 3 Tropfen Methylrot zugesetzt und mit 0,1 N-HCl nahezu neutralisiert, dann mit Wasser verdünnt auf 50 g und mit 0,1 N-HCl titriert zum Farbumschlag. 1 ccm 0,1 N-HCl ... 0,0309 g Alkaloide.

Bei Bestimmungen nach dieser Vorschrift konnten wir nicht so hohe Werte erhalten wie nach Ph. H. IV.

Methode von Fromme von 1923	9,06 %	9,24 %
Methode der Ph. H. IV	10,64 %	10,56 %

Nach einem von Lehmann und Palm angegebenen Versuch scheint uns dies erklärlich. Sie erhielten bei heißer Extraktion von 2,5 g Chinarinde mit 5 g Salzsäure und 45 g Wasser und heißer Filtration (1.) und nachherigem wiederholtem Auswaschen mit heißer 1 % iger Salzsäure (2.) folgende Werte:

1. Extraktion	6,5 %
2. Extraktion + Nachwaschungen	7,5 %

Ohne wiederholte Säurebehandlung erhält man beim Frommeschen Verfahren von 1923 also zu tiefe Resultate. Nach Lehmann und Palm sollen auf diese Weise nur die „säurelöslichen, kristallinen Alkaloide“ bestimmt werden.

Die Annahme von Lehmann und Palm wird von Palme und Winberg¹ bezweifelt. Sie weisen darauf hin, daß es gelingt, praktisch die Gesamtalkaloidmenge durch wiederholte Extraktion mit verdünnter Säure auszuziehen, und daß diese Tatsache der erwähnten Hypothese von den „säurelöslichen und säureunlöslichen“ Chinaalkaloiden widerspricht. Durch bestimmte Versuchsanordnung haben Palme und Winberg die fortgesetzte Extraktion von Chinarinde mit 2 % iger Salzsäure quantitativ verfolgt. Gestützt auf diese Untersuchungen wollen sie die Differenzen in den Resultaten durch Adsorptionserscheinungen erklärt wissen, indem sie annehmen, daß bei Extraktion von Drogenpulvern mit einem Lösungsmittel sich Gleichgewichte einstellen müssen, die einem Adsorptionsgesetz unterstellt sind. Die Werte, die sie

¹ Palme und Winberg, Arch. Pharm. 254, 537 (1916).

im Verlaufe ihrer Untersuchungen erhielten, stimmen mit den nach den Adsorptionsformeln von Freundlich und Arrhenius berechneten sehr schön überein und lassen sich zwanglos in die Adsorptionskurve einfügen.

Das Verfahren von Rapp¹ benutzt statt Traganth zum Binden des Wassers Gips in reichlichen Mengen. Wie Heiduschka und Wolf² schon nachwiesen, erhält man damit zu tiefe Werte, da leicht Chloroform mit den darin gelösten Alkaloiden vom Gipsbrei eingeschlossen wird. Die Verfasser haben das Rappsche Verfahren mit Benutzung der alten Methode Frommes abgeändert. Dieser Extraktionsmodus ist unseres Erachtens nicht elegant und zeigt vor der Methode der Ph. H. IV keine Vorteile, abgesehen von der Titration mit Methylrot.

Bamberger³ hat die Rappsche Methode ebenfalls mit der alten Frommeschen Methode kombiniert:

2,5 g Rinde werden mit einem Gemisch von 2 ccm Salzsäure und 20 ccm Wasser 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Abkühlen fügt man 25 g Chloroform und 50 g Äther und nach Umschütteln 5 g Natronlauge zu und schüttelt dann etwa 300mal kräftig in 2 bis 3 Minuten, versetzt mit soviel Gips (40—50 g), daß Zusammenballen und Absitzen eintritt und gießt 60 g der klaren Lösung in einen Scheidetrichter. Nun schüttelt man zweimal mit je 5 ccm 0,1 N-HCl und zweimal mit je ca. 10 ccm Wasser jedesmal 2 Minuten aus. Die Ausschüttelungen vereinigt man in einem Erlenmeyerkolben und titriert unter Zusatz von 5 Tropfen Methylrot mit 0,1 N-Kalilauge zurück.

Diese Methode gibt, wie Bamberger selbst anführt, dieselben Resultate wie das Verfahren der Ph. H. IV. Sie ist aber bedeutend komplizierter und besitzt deshalb auch mehr Fehlerquellen.

Herzog⁴ empfiehlt bei der Frommeschen Methode von 1905 an Stelle von Hämatoxylin Methylrot zu verwenden, und neuerdings hat Fromme⁵ selbst sein Verfahren dahin abgeändert.

Seither wurden unseres Wissens keine prinzipiellen Neuvorschläge mehr gemacht für die Wertbestimmung der China-

¹ Rapp, Apoth.-Ztg. **33**, 463 (1918); **34**, 21 (1919).

² Heiduschka und Wolf, Apoth.-Ztg. **34**, 134 (1919).

³ Bamberger, Pharm. Zentralh. **61**, 257 (1920).

⁴ Herzog, Apoth.-Ztg. **35**, 216 (1920).

⁵ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1924, 248.

rinde. Dagegen führte das Suchen nach einem besseren Indikator zur Titration der Alkaloide zu weiteren Vorschlägen.

Eine von Frerichs und Mannheim¹ publizierte ausführliche Arbeit hat endlich die Umschlagsverhältnisse bei Titrationsen unter Verwendung von Hämatoxylin aufgeklärt. Die Verfasser kamen zu dem Ergebnis, daß Hämatoxylin ein sehr brauchbarer Indikator ist, wenn eine vorrätig gehaltene alkoholische Lösung (1:100) zur Anwendung gelangt und rasch direkt ohne Ätherzusatz titriert wird.

Der schon erwähnte, von Rupp und Loose² gefundene neue Indikator Methylrot wurde von verschiedenen Seiten geprüft. Frey³ hat bei Ausarbeitung von sogenannten Schnellmethoden zur Wertbestimmung von Alkaloidrogen weitgehenden Gebrauch von Methylrot gemacht. Nach Treadwell⁴ eignet sich Methylrot besonders zur Titration von schwachen Pflanzenbasen. Schoorl⁵ hat durch Feststellung der Neutralisationskurve von Chinin die kombinierte Titration mit Methylrot und Neutralrot befürwortet. Da bei Alkaloidbestimmungen meist alkoholische Lösungen zur Titration gelangen, empfahl Kolthoff⁶ als Indikator Bromkresolpurpur, das einen schärferen Umschlag zeigen soll.

Nach dieser kritischen Durchsicht der vorliegenden Literatur beschlossen wir, einige neue Versuche auszuführen und speziell die Extraktionsart und die Indikatorwahl etwas näher zu prüfen, in der Hoffnung, die Methode der Ph. H. IV, die sich im allgemeinen gut bewährt hat, noch etwas zu verbessern.

Experimenteller Teil.

Nach den vorliegenden Literaturangaben und eigenen Erfahrungen ist als sicher anzunehmen, daß eine Vorbehandlung der Droge

¹ Frerichs und Mannheim, Arch. Pharm. **253**, 117 (1915).

² E. Rupp, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 3905 (1908).

³ O. Frey, Expreßanalysen für Drogen und galenische Präparate mit Methylrot als Indikator, Wien, 1911, 8.

⁴ F. P. Treadwell, Lehrbuch der analytischen Chemie 1919, 7. Aufl., II. Bd., 467.

⁵ N. Schoorl, Rec. Trav. Chim. **41**, 228 (1922).

⁶ I. Kolthoff, Pharm. Weekbl. **62**, 478 (1925).

mit Säure selbst bei mittelfeinen oder gröberem Pulvern¹ eine gute Extraktion gewährleistet. Wir haben daher dieses Verfahren gewählt und das auf die saure Extraktion folgende Ausschütteln der alkalisierten wässrigen Drogenaufschwemmung mit organischen Lösungsmitteln studiert.

Ein Vergleich der Löslichkeit der vier wichtigsten Chinaalkaloide in verschiedenen Lösungsmitteln mag die Verhältnisse näher beleuchten.

Löslichkeit von Chinin, Cinchonin, Chinidin und Cinchonidin in einigen organischen Lösungsmitteln bei 10 — 25°².

	C ₂ H ₅ OH	CH ₃ OH	CHCl ₃	C ₆ H ₆	(C ₂ H ₅) ₂ O
Chinin, wasserfrei . . .	1 : 0,75	1 : 1,5	1 : 2	1 : 180	1 : 1
Chinidin	1 : 45	1 : 150	1 : 4	1 : 84	1 : 30
Cinchonin	1 : 205	1 : 160	1 : 110	1 : 2000	1 : 371
Cinchonidin	1 : 25	1 : 17	1 : 3,5	1 : 900	1 : 188

Methylalkohol und Äthylalkohol kommen überhaupt nicht in Betracht infolge ihrer Mischbarkeit mit Wasser und da sie stark gefärbte Auszüge geben, die eine weitgehende Reinigung erfordern.

Amylalkohol, den seinerzeit Matolcsy³ empfahl, ist für Bestimmungszwecke ganz zu verwerfen wegen seiner inkonstanten Eigenschaften, des hohen Siedepunktes und seiner Giftigkeit.

In Äther und Benzol sind Cinchonin und Cinchonidin schwer löslich.

Chloroform erscheint nach den Löslichkeitsverhältnissen als geeignetes Lösungsmittel. Es hat aber nach unseren Erfahrungen die unangenehme Eigenschaft, mit der alkalisierten Droge schwer trennbare Emulsionen zu bilden. Verwendet man statt Chloroform ein Gemenge von Chloroform und Äther, so ist die Emulsionsbildung geringer und kann unter Umständen ganz vermieden werden.

¹ O. Linde, Apoth.-Ztg. **35**, 440 (1920).

² Nach G. L. Schaefer, Am. J. Pharm. **85**, 439 (1913) mit Ergänzungen nach Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, III. Aufl., Bd. III, 807—848.

³ N. Matolcsy, J. de pharm. et chim. **24**, 316 (1906).

Schlumpf.

Das Verfahren der Ph. Nederl. V verwendet zur Extraktion nur Chloroform, vermeidet aber eine Vorbehandlung der Droge mit verdünnter Salzsäure und alkalisiert die Droge direkt durch Mischen mit gelöschtem Kalk und soviel Ammoniak, daß die Droge gerade durchfeuchtet ist:

Man mische genau 3 g Chinarinde (Pulver B₄₀) mit 1 g Calciumhydroxyd, füge dazu in kleinen Portionen 3 ccm Ammoniak und rühre solange, bis eine homogene Masse entstanden ist. Man bringe das Gemisch in 60 ccm Chloroform, schüttele wiederholt und kräftig und filtriere nach 3 Stunden das Chloroform durch ein trockenes Filter, wobei man Sorge trage, daß so wenig wie möglich verdampft.

Von 50 ccm des Filtrates (= 2,5 g Chinarinde) destilliert man das Chloroform ab, löst den Rückstand unter Erwärmen in 20 ccm Spiritus, fügt 20 ccm Wasser zu und titriert mit 0,1 N-HCl unter Zugabe von 3 Tropfen Methylrot in der noch warmen Lösung die Alkaloide¹.

Bestimmungen, die wir nach diesem Verfahren ausführten, gaben stets tiefere Werte als die Methode der Ph. H. IV. Wir extrahierten dabei auf der Schüttelmaschine mehrere Stunden und filtrierten durch ein Sandersches Zigarettenfilter, um jeden Verlust von Chloroform zu vermeiden. Der benötigte aliquote Teil von 50 ccm Filtrat konnte von uns mehrmals nicht erhalten werden. Die Resultate waren folgende:

	Menge der abfiltrierten Lösung	Gefundene Alkaloidmenge	Prozentgehalt	Extraktionsdauer
1	40 ccm = 2 g Droge	0,1952 g	9,76	3 Stunden
2	40 ccm = 2 g Droge	0,1943 g	9,71	3 Stunden
3	40 ccm = 2 g Droge	0,1991 g	9,96	5 Stunden
4	48 ccm = 2,4 g Droge	0,2371 g	9,88	5 Stunden

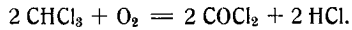
Bei Bestimmungen nach der Methode der Ph. Nederl. IV, deren Prinzip dasselbe ist, wobei aber die doppelte Menge Ammoniak zur Verwendung gelangt, erhielten wir folgende Werte:

	Menge der abfiltrierten Lösung	Gefundene Alkaloidmenge	Prozentgehalt	Extraktionsdauer
1	75 ccm = 5 g Droge	0,4758 g	9,52	3 Stunden
2	75 ccm = 5 g Droge	0,4742 g	9,48	3 Stunden

¹ Nederlandsche Pharmacopee, Vijfde uitgave 1926.

Wir erklären uns diese Werte einerseits durch die erhöhte Löslichkeit der Chinaalkaloide in Ammoniak¹ und andererseits durch eine schlechte Durchdringung der nassen Droge mit Chloroform und daraus resultierende ungenügende Extraktion.

Das Extraktionsgemenge der Ph. H. IV aus zwei Teilen Äther und einem Teil Chloroform scheint uns daher sowohl praktisch wie auch theoretisch begründet. Wir haben uns nach einigen Vorversuchen ebenfalls für dieses Lösungsgemisch entschieden, ob-
schon Chloroform für Alkaloidbestimmungen vermieden werden sollte wegen seiner Zersetzlichkeit am Lichte unter Bildung von Phosgen und Salzsäure:



Nach Panchaud² genügen schon 0,0229 g Chloroform, die zur Zersetzung gelangen, um durch die gebildete Salzsäure 0,12 g Gesamtalkaloide (entsprechend 2 g einer 6%igen Droge) zu binden. Die chloroformhaltigen Auszüge der Alkaloide müssen sofort nach Filtration, vor direktem Sonnenlicht geschützt, abdestilliert und die letzten Spuren Chloroform mit Alkohol abgedampft werden. Nach eigenen Erfahrungen genügt ein Stehenlassen der Äther-Chloroformlösung bei diffusem Licht während einiger Stunden, um ganz falsche Werte zu liefern.

Es warf sich weiter die Frage auf, in welchem Verhältnis Droge und organisches Lösungsmittel zueinander stehen sollen. Die Ph. H. IV verwendet für 2,5 g Droge 75 g Äther-Chloroform, also das Verhältnis 1:30. Fromme³ machte den Versuch, die Menge des Lösungsmittels herabzusetzen und änderte 1924 sein altes Verfahren dahin ab, indem er gleichzeitig den Indikator Methylrot einführte:

2,5 g feines oder gröberes Pulver werden mit einem Gemisch aus 20 g Wasser und 2 g Salzsäure in einer Arzneiflasche oder einem Erlenmeyerkolben von 200 ccm Inhalt in Wasser gestellt und vom Beginn des Kochens 10 Minuten lang erhitzt, nach Erkalten des Auszuges dieser mit 40 g Äther und 20 g Chloroform durchgeschüttelt, dann mit 5 g Natronlauge (15%) versetzt und 10 Minuten öfters und kräftig geschüttelt.

¹ Scholtz, Arch. Pharm. **250**, 418 (1912).

² A. Panchaud, Schweiz. Wochens. f. Ch. und Ph. **44**, 580 (1906).

³ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar und Loretz 1924, 248.

Dann wird mit 1,5 g Traganthpulver kräftig durchgeschüttelt und durch Watte 48 g abgessen (oder soviel als möglich, je 24 g = 1 g Rinde) in einen Erlenmeyerkolben von 150 ccm, abdestilliert, der Rückstand mit einigen Kubikzentimetern Spiritus versetzt und im Dampfbad abgedampft. Dann wird der Rückstand in 20 ccm Spiritus gelöst (leicht erwärmt), mit Wasser versetzt bis zur beginnenden Trübung (ca. 20 ccm) und 3 Tropfen Methylrot und mit 0,1 N-HCl auf Farbumschlag titriert. Dann werden nochmals 20 ccm Wasser zugesetzt und im Falle eines Rückschlages der Farbe noch weiter titriert bis zum Umschlag nach Nelkenrot. 1 ccm 0,1 N-HCl entspricht 0,0309 g Chinaalkaloiden.

Wir haben nach dieser neuen Methode Bestimmungen ausgeführt. Dabei fiel uns auf, daß fast stets beim Ausschütteln der Alkaloide starke Emulsionen auftraten, die sich zwar wieder trennen ließen bei Traganthzusatz. Aber die Resultate waren regelmäßig tiefer, als die nach Ph. H. IV erhaltenen. Da sich die beiden Verfahren nur in der Menge des Lösungsmittels und der Lauge wesentlich unterscheiden, suchten wir den Fehler an dieser Stelle. Wir führten eine Reihe von Versuchen aus nach der Methode der Ph. H. IV, wobei wir die Laugenmengen änderten:

Droge A:	Alkaloidgehalt ¹ :	
1. 4 ccm NaOH (15 %)	7,51 %	Emulsionsbildung
2. 5 ccm NaOH (15 %)	10,56 %	Keine Emulsionsbildung
3. 6 ccm NaOH (15 %)	10,79 %	Keine Emulsionsbildung
4. 3 ccm NaOH (30 %)	10,72 %	Keine Emulsionsbildung
Droge B:		
1. 4 ccm NaOH (15 %)	4,36 %	Emulsionsbildung
2. 5 ccm NaOH (15 %)	4,82 %	Emulsionsbildung
3. 5 ccm NaOH (15 %)	5,30 %	Keine Emulsionsbildung
4. 6 ccm NaOH (15 %)	5,32 %	Keine Emulsionsbildung
5. 7 ccm NaOH (15 %)	5,11 %	Keine Emulsionsbildung
6. 3 ccm NaOH (30 %)	5,29 %	Keine Emulsionsbildung

Es ist deutlich ersichtlich, daß jeweils bei Emulsionsbildung die Extraktion ganz ungenügend ist. Ursachen für eine Emulgierung scheinen uns verschiedene vorzuliegen. Sicher spielt das Volumenverhältnis von wässriger Lösung zu organischem Lösungsmittel eine große Rolle. Dieses Verhältnis ist:

$$\begin{aligned} \text{nach Fro mme 1924} & \dots\dots\dots 26 : 68 = 1 : 2,62 \\ \text{nach Ph. H. IV} & \dots\dots\dots 25 : 85 = 1 : 3,40 \end{aligned}$$

¹ Die Titrationen wurden alle mit Methylrot nach einer später zu besprechenden Vorschrift ausgeführt.

Außerdem ist der Alkalitätsgrad der wässrigen Lösung, die Natur der Droge (Gerbstoffreichtum?) und der Feinheitgrad des Rindenpulvers von nicht zu unterschätzender Bedeutung.

Um diese Emulsionsbildung zu beseitigen, haben wir bei der Frommeschen Methode die Menge der zugesetzten Säure + Wasser von 22 ccm auf 17 ccm herabgesetzt, wobei das Verhältnis 1:3,4 wird. Nach dieser Modifikation erhielten wir nie Emulsionen und daher auch richtige Werte.

	Droge A:	
Methode Fromme 1924	9,73 %	9,80 %
Methode Fromme 1924 (aber 17 ccm Säure statt 22 ccm)	10,59 %	10,67 %
Methode der Ph. H. IV	10,64 %	10,59 %

Gleichzeitig läßt sich der vom schweizerischen Arzneibuch zu hoch angesetzte Traganthzusatz von 2 g auf 1 g reduzieren. Bei dieser Arbeitsweise ist ein aliquoter Teil von 48 g Äther-Chloroformlösung leicht klar durch einen kleinen Wattebausch abzugießen. Filtration durch ein Papierfilter ist nicht notwendig, und die Verdunstung der Lösung wird dadurch auf ein Minimum herabgedrückt. Nach unseren Erfahrungen gehen bei raschem Durchgießen durch etwas Watte von den 60 g Lösung durchschnittlich 0,5—0,6 g verloren.

Die Möglichkeit, eine kleinere Drogenmenge für eine Wertbestimmung zu nehmen, haben wir auch erwogen und mit entsprechend reduzierten Mengen nach der Methode Ph. H. IV gearbeitet:

2,00 g Rindenpulver wurden mit einem Gemisch von 4 ccm verdünnter Salzsäure und 11 ccm Wasser 10 Minuten im Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten mit 35 g Äther und 15 g Chloroform versetzt und geschüttelt. Dann wurden 4 g Natronlauge zugesetzt und während 10 Minuten kräftig geschüttelt. Nach Zusatz von 1 g Traganth und Umschütteln wurden 40 g Lösung (= 1,6 g Droge) durch Watte abgossen und sofort abdestilliert. Der Rückstand wurde in stark verdünnter alkoholischer Lösung titriert.

Resultat:

Droge A	10,55 %	10,40 %
Droge B	5,30 %	5,32 %

Die interessanten Mikrobestimmungen von Dieterle¹ kommen unseres Erachtens heutzutage für Pharmakopöe-Zwecke kaum in

¹ H. Dieterle, Arch. Pharm. 261, 80 (1923).

Betracht, da sie besonders fein geteilte Büretten und sehr sorgfältige Arbeit erfordern. Ein Herabsetzen der Drogenmenge soll nur soweit geschehen, daß die erforderliche Genauigkeit der Bestimmungsmethode nicht leidet. Wir sind daher auch wieder von unseren Versuchen abgekommen, da die Materialersparnis minim ist und sicher nicht die vergrößerte maximale Streuung¹ der Bestimmungsergebnisse aufwiegt.

In dem Rückstand, den man beim Abdestillieren der Ätherchloroformausschüttelung erhält, liegen die Alkaloide als freie Basen vor, und ihre Bestimmung kann titrimetrisch auf verschiedene Weise geschehen. Die Alkaloide lassen sich entweder direkt mit Säure titrieren oder man kann sie in überschüssiger Säure lösen und den Säureüberschuß mit Lauge zurücktitrieren. Wir arbeiteten mit Mikrobüretten mit 0,05 ccm-Teilung und einer Tropfenzahl von 40—50 pro Kubikzentimeter.

Ein Vergleich der Dissoziationskonstanten zeigt, daß sich die Chinaalkaloide als zweisäurige Basen ganz ähnlich verhalten. Kolthoff² bestimmte folgende Werte:

	K_1	Exponent p_H	K_2	Exponent p_H
Chinin	$1,08 \times 10^{-6}$	5,97	$1,35 \times 10^{-10}$	9,88
Chinidin	$3,7 \times 10^{-6}$	5,43	$1,0 \times 10^{-10}$	10,0
Cinchonin	$1,4 \times 10^{-6}$	5,85	$1,1 \times 10^{-10}$	9,92
Cinchonidin	$1,6 \times 10^{-6}$	5,80	$8,4 \times 10^{-10}$	10,08

Als Grundlage zur Wahl eines geeigneten Indikators hat Schoorl³ umfassende Untersuchungen angestellt und die Neutralitätskurve von Chinin in wässriger und alkoholischer (50%) Lösung bestimmt. Es ergaben sich folgende Werte, die für die Titration von Chinaalkaloiden von größter Bedeutung sind:

	Wässrige Lösung Exponent p_H	Alkoholische Lösung (50%) Exponent p_H
Chinin · 2 HCl	3,5	3,95
Chinin · HCl	6,1	5,5

¹ Nach Benedetti-Pichler, Ztschr. f. analyt. Chem. **61**, 305 (1922).

² I. Kolthoff, Der Gebrauch der Farbenindikatoren, 2. Aufl., 1923, 215.

³ N. Schoorl, Rec. Trav. Chim. **41**, 228 (1922).

Umschlagsintervall und Titrerexponent (p_T) einiger in Betracht kommender Indikatoren seien im folgenden zusammengestellt:

	Umschlagsintervall	Titrierexponent (P_T)	Farbe
Methylrot	4,2—6,3	5	gelbrot
Bromkresolpurpur . . .	5,2—6,8	6	purpurgrün
Neutralrot	6,8—8,0	7	orangerot

Wir fanden, daß eine 0,05 N wässrige Lösung von Chininhydrochlorid (1,9825 g $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl \cdot 2 H_2O$ zu 100 ccm Wasser gelöst) auf Methylrot beinahe alkalisch reagiert. Es entsteht eine Zwischenfarbe von Rötlichgelb. Mit 0,02 ccm 0,1 N-HCl schlägt die Farbe sofort nach Rot um, ebenso mit 0,02 ccm 0,1 N-NaOH nach Gelb. Auf Neutralrot reagiert diese Lösung sauer.

Neuerdings hat Morton¹ in eingehender Studie die p_H -Werte der Hydrochloride der hauptsächlichsten Cinchona-Alkaloide bestimmt. Er fand folgende Werte für 0,05 N-Lösungen:

	p_H :
Chinin · HCl	6,20
Chinidin · HCl	6,19
Cinchonin · HCl	6,10
Cinchonidin · HCl	6,30

Diese Angaben zeigen deutlich, daß ein Chinaalkaloidgemenge sehr wohl mit einem Indikator titriert werden kann. Auf Grund seiner Untersuchungen empfahl Schoorl die kombinierte Titration mit Methylrot und Neutralrot. Wir haben die Versuche von Schoorl zum Teil nachgeprüft und können sie bestätigen.

Wir benützten dazu eine 0,05 N-Lösung von Chininhydrochlorid. 10 ccm dieser Lösung wurden mit 9,99 ccm 0,1 N-HCl versetzt und erst mit Methylrot auf gelb titriert. Dann wurde Neutralrot zugesetzt und bis zum Farbumschlag titriert. Der Umschlag mit Methylrot liegt noch etwas auf der sauren Seite, derjenige mit Neutralrot bereits auf der alkalischen. Das Mittel gibt den praktisch richtigen Punkt, der auch mit Bromkresolpurpur erreicht wird.

¹ C. Morton, Pharm. Journ. **117**, 168 (1926).

Die Rücktitration ergab:

mit Methylrot	9,90 ccm	0,1 N-NaOH
mit Neutralrot	10,04 ccm	0,1 N-NaOH
Mittel	9,97 ccm	0,1 N-NaOH.

In der gelb gefärbten alkoholischen Lösung, die man bei der Drogenbestimmung erhält, sind die Umschläge mit Neutralrot nicht befriedigend. Die Titration läßt sich auf alle Fälle nur bei einiger Übung ausführen.

Bestimmung von Droge B nach Schoorl:

Der Alkaloidrückstand wurde in 10 ccm Spiritus gelöst, 9,99 ccm 0,1 N-HCl zugesetzt und mit 0,1 N-NaOH zurücktitriert:

mit Methylrot	6,60 ccm	0,1 N-NaOH
mit Neutralrot	6,70 ccm	0,1 N-NaOH
Mittel	6,65 ccm	0,1 N-NaOH

Säureverbrauch also $9,99 - 6,65 = 3,34$ ccm 0,1 N-HCl,
entsprechend 0,10153 g Alkaloiden . . . = 5,08 %.

Mit dem Vorschlag von Kolthoff¹ und neuerdings auch von Wales² und von Morton³, Bromkresolpurpur als Indikator zu verwenden, konnten wir uns, so gut er theoretisch auch begründet ist (man vergleiche die vorstehende Tabelle Seite 23), bei der Alkaloidbestimmung der Chinarinde nicht befreunden, da der Umschlag von blau über grün nach gelb in den gefärbten Alkaloidlösungen nur einem geübten Auge deutlich erscheint. Auch Morton ist offenbar dieser Meinung, wenn er eine Vergleichslösung empfiehlt.

Ein Vergleich sämtlicher Indikatorvorschläge zeigt, daß unzweifelhaft Bromkresolpurpur theoretisch der beste Indikator sein muß. Es läßt sich aber leicht berechnen, daß der Fehler, der bei Verwendung von Methylrot an Stelle von Bromkresolpurpur entsteht, innerhalb der Fehlergrenze liegt, wie wir sie für eine praktische Alkaloidbestimmung ermittelt haben. Es dürfte in einem solchen Falle sicher vorteilhafter sein, einen Indikator mit relativ sicherem Farbumschlag zu wählen, wie wir ihn im Methylrot

¹ I. Kolthoff, Pharm. Weekbl. **62**, 478 (1925).

² Wales, Ind. u. eng. Chem. **18** [4], 390 (1926).

³ C. Morton, Pharm. Journ. **117**, 168 (1926).

besitzen. Nach unseren Erfahrungen können die Fehler, die durch Unsicherheit in der Erkennung des Endpunktes beim Titrieren entstehen, bedeutend größer werden.

Die direkte Titration der Alkaloidbasen führten wir auf zwei Arten aus:

1. Der Rückstand der Base wurde in 10 ccm Spiritus gelöst und mit 100 ccm Wasser verdünnt, wobei eine stark milchige Trübung eintritt, da der größte Teil der Alkaloide und Harzstoffe feinverteilt ausfällt. Diese Flüssigkeit wurde mit 3—4 Tropfen Methylrot versetzt und mit 0,1 N-HCl titriert, wobei gegen den Umschlagspunkt hin die Trübung naturgemäß abnimmt.

Bei diesem Titrationsmodus treten aber, wie schon Frerichs und Mannheim¹ richtig bemerkten, Verzögerungserscheinungen auf, indem die ausgefallenen Alkaloide einige Zeit erfordern zur Lösung in der zugesetzten Salzsäure. Es tritt daher frühzeitig eine Rotfärbung ein, die beim Stehen wieder verschwindet. Der endgültige Farbumschlag ist dabei schwer zu konstatieren. Daß auf diese Weise leicht zu tiefe Resultate erhalten werden, zeigen die folgenden Versuche:

	I.	II.
a) direkt nach obigem Titrationsmodus	10,53 %	10,50 %
b) Säureüberschuß zugegeben und nach einigen Minuten zurücktitriert	10,64 %	10,58 %

Die Werte werden also bei direkter Titration durchschnittlich 0,1 % tiefer. Wir haben zuerst diesen Titrationsmodus in stark verdünnter alkoholischer Lösung gewählt, da nach Kolthoff² das Umschlagsintervall von Methylrot durch Alkohol (über 40 %) vergrößert wird, was wir durch eigene Versuche bestätigen können. Außerdem wird der Umschlag mit Methylrot in alkoholischer Lösung noch durch folgende Tatsache unscharf: Durch Alkoholzusatz wird die Dissoziationskonstante der Alkaloide kleiner, andererseits die Hydrolyse der Alkaloidsalze größer, da die Ionisationskonstante des Wassers weniger abnimmt als diejenige der Alkaloide. Um diesen verfrühten Umschlag und gleichzeitig den Einfluß des Alkohols auf die Titration zu umgehen, haben wir den Titrationsmodus der Ph. H. IV benutzt unter Ersatz des

¹ Frerichs und Mannheim, Arch. Pharm. **253**, 117 (1915).

² I. Kolthoff, Rec. Trav. Chim. **42**, 251 (1923); Pharm. Weekbl. **62**, 478 (1925).

Indikators Hämatoxylin durch Methylrot. Die Titrationen wurden also zweitens nach folgender Vorschrift ausgeführt:

2. Der Alkaloidrückstand wurde in 10 ccm Spiritus gelöst und 10 ccm Wasser und 3 Tropfen Methylrot zugesetzt. (Der Wasserzusatz von 10 ccm hat selbst bei 10%igen Drogen keine Trübung zur Folge.) Dann wurde mit 0,1 N-HCl titriert bis zur leichten Rötung. Der Umschlag erfolgte in dieser ca. 50%igen alkoholischen Lösung allmählich über Orange. Bei eingetretenem Umschlag wurde mit 50 ccm Wasser verdünnt, wobei ein Rückschlag nach Gelb eintrat, da sich die Dissoziationskonstante der Alkaloide durch Verminderung des Alkoholgehaltes ändert. Nun titrierte man weiter, wobei der Umschlag auf 2 Tropfen ganz sicher zu sehen war.

Die Vorschrift nach Fromme von 1924 arbeitet prinzipiell ganz gleich. Nach unseren Erfahrungen genügen aber 10 ccm Spiritus zum Lösen der Alkaloide völlig.

Die indirekte Titration zeitigt dieselben Resultate wie die direkte Titration nach der zuletzt erwähnten Art und ist etwas zeitraubender als letztere.

Auf Grund unserer Untersuchungen schlagen wir für Arzneibuchzwecke die folgende Methode zur Bestimmung der Chinaalkaloide vor:

Bestimmung der Gesamtalkaloide in Chinarinde.

- 2,50 g Chinarindenpulver werden in einer Arzneiflasche von 150 ccm Inhalt mit einer Mischung von 7 ccm Salzsäure (ca. 2 N) und 10 ccm Wasser übergossen. Die Mischung wird 10 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt und nach dem Erkalten mit 40 g Äther und 10 g Chloroform durchgeschüttelt. Man giebt hierauf 4 g Natronlauge (30%) hinzu und schüttelt während 10 Minuten häufig und kräftig um, fügt dann 1 g Tragantpulver zu und schüttelt wieder tüchtig. Dann gießt man 48 g der Äther-Chloroformlösung (= 2 g Droge)¹ durch einen kleinen Wattebausch in einen Erlenmeyerkolben von 150 ccm

¹ Die durch Äther-Chloroform gelöste Extraktivstoffmenge ist so gering, daß sie vernachlässigt werden kann.

Inhalt und destilliert das Lösungsmittel sofort ab. Den Rückstand übergießt man mit 5 ccm Weingeist, dampft völlig ab und löst vollständig in 10 ccm Weingeist (eventuell unter leichtem Erwärmen). Dann versetzt man mit 10 ccm Wasser und 4 Tropfen Methylrot, mischt gut und titriert mit 0,1 N-HCl bis zur Rotfärbung. Nun verdünnt man mit 50 ccm Wasser und titriert nach dem Rückschlag auf Gelb weiter bis zur leichten Rotfärbung. 1 ccm 0,1 N-HCl entspricht 0,0304 g Chinaalkaloiden.

Nach vorstehender Methode führten wir Bestimmungen aus mit folgenden Resultaten:

Droge A:

in 2 g Droge	0,21188 g Alkaloide = 10,59 %	
in 2 g Droge	0,21341 g Alkaloide = 10,67 %	D = 0,17 %
in 2 g Droge	0,21098 g Alkaloide = 10,55 %	
in 2 g Droge	0,21432 g Alkaloide = 10,72 %	

Droge B:

in 2 g Droge	0,10275 g Alkaloide = 5,14 %	
in 2 g Droge	0,10214 g Alkaloide = 5,11 %	D = 0,09 %
in 2 g Droge	0,10093 g Alkaloide = 5,05 %	
in 2 g Droge	0,10184 g Alkaloide = 5,09 %	

Die Bestimmungsmethode ist sehr einfach und rasch ausgeführt. (Dauer für eine Bestimmung ca. 1 Stunde). Die Genauigkeit ist eine genügende, da, nach Benedetti-Pichler¹ berechnet, die maximale Streuung D für eine 10,5 %ige Droge mindestens 0,2 % und für eine 5 %ige Droge mindestens 0,12 % beträgt.

Die Berechnungen der Alkaloidgehalte wurden alle mit dem von Keller benützten Äquivalentgewicht 304 ausgeführt, um Vergleiche zu ermöglichen. Die verschiedenen Arzneibuchmethoden benützen etwas abweichende mittlere Äquivalente für die Gesamtalkaloide der Chinarinde:

D. A. B. 5	309
Ph. H. IV	304
Ph. Nederl. V	310 ² .

¹ Benedetti-Pichler, Ztschr. f. analyt. Chem. 61, 305 (1922).

² Die Äquivalente der wasserfreien Alkaloide betragen: für Chinin und Chinidin 324; für Cinchonin und Cinchonidin 294.

Die Differenzen in den Resultaten werden aber praktisch unbedeutend, wie die folgenden Berechnungen einer Analyse mit den verschiedenen Äquivalenten zeigen:

Zur Titration des Alkaloidrückstandes aus 2 g Droge wurden in einem Falle 3,36 ccm 0,1 N-HCl verbraucht, entsprechend

0,10382 g Alkaloiden = 5,19 % nach D. A. B. 5

0,10214 g Alkaloiden = 5,11 % nach Ph. H. IV

0,10416 g Alkaloiden = 5,21 % nach Ph. Nederl. V.

Die von uns vorgeschlagene Modifikation der Methode der Ph. H. IV zeigt folgende Verbesserungen:

1. Die Menge des benötigten organischen Extraktionsmittels ist kleiner; ebenso gelangt weniger Tragant zur Verwendung.
2. Das vollständige Vertreiben des Chloroforms wird durch einmaliges Lösen des Alkaloidrückstandes in Weingeist und völliges Abdampfen besser erreicht, als durch dreimaliges Abdampfen mit je 5 ccm Äther.
3. Die Titration unter Verwendung von Methylrot als Indikator statt Hämatoxylin ist zuverlässiger und zeigt einen guten Umschlag.

Die Wertbestimmung der Brechwurzel.

Die officinelle Brechwurzel (Rio-Ipecacuanha von *Uragoga Ipecacuanha* Baillon) enthält neben einigen nicht näher erforschten und zum Teil noch umstrittenen Alkaloiden¹ als physiologisch wirksame Körper die Alkaloide Emetin und Cephaelin.

Dichgans² hat die Arzneibuchmethoden für die Wertbestimmung der Brechwurzel einer Kritik unterzogen und ist zum Schlusse gekommen, daß die titrimetrischen Verfahren infolge ihrer bedeutenden Einfachheit der Ausführung den gravimetrischen vorzuziehen sind. Besonders empfohlen wird von Dichgans, wie auch von Auenmüller³ in einer neueren Publikation, die Methode der Pharmacopoea Hungarica III (1909). Dieses Verfahren benutzt als Indikator zur indirekten Titration der Alkaloide Jodeosin in einem Äther-Wasser-System, unterscheidet sich aber sonst prinzipiell nicht von der Methode Panchaud⁴, die in die Pharmacopoea Helvetica IV aufgenommen worden ist.

Das Prinzip des Verfahrens der Ph.H. IV ist folgendes: Extraktion der Alkaloide aus der mit Ammoniak alkalisierten Droge mit Äther; Abfiltrieren eines aliquoten Teiles des Auszuges und Abdestillieren der Extraktionsflüssigkeit; direkte Titration des Alkaloidrückstandes mit 0,1 N-Salzsäure und Hämatoxylin als Indikator in einem Äther-Wasser-System.

¹ Paul und Cownley fanden 1894 (Pharm. Journ. **54**, 181 [1894]) das ätherunlösliche Psychotrin und Hesse im Jahre 1914 (A. **405**, 1) zwei ätherlösliche Alkaloide Ipecamin und Hydroipecamin, die dem Cephaelin resp. Psychotrin isomer sein sollen. Pyman (Soc. **111**, 419; **113**, 222) fand unter den ätherlöslichen Bestandteilen den o-Methyläther des Psychotrins und das Emetamin.

² H. Dichgans, Vergleichende Untersuchungen der in die Pharmakopöen aufgenommenen Wertbestimmungsmethoden starkwirkender Drogen, Dissertation Bern, 1913, 69.

³ Auenmüller, Schweiz. Apoth.-Ztg. **58**, 435 (1920).

⁴ A. Panchaud, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **41**, 533 (1903).

Verschiedene Arzneibuchverfahren¹ benutzen zum Alkalisieren der Droge Lauge und zur Extraktion ein Äther-Chloroformgemisch. Von den Ipecacuanha-Alkaloiden ist nur das Psychotrin in Äther unlöslich, weshalb der Chloroformzusatz, der eine völlige Extraktion aller Alkaloide gewährleistet, gemacht wird. Nach Keller² soll Cephaelin in Äther sehr schwer löslich sein. Wir haben deshalb einige orientierende Löslichkeitsbestimmungen mit reiner Alkaloidbase ausgeführt und gefunden, daß Cephaelin wohl doppelt so schwer löslich ist wie Emetin, aber immer noch so leicht, um eine völlige Extraktion aus der Droge mit mäßigen Äthermengen zu gestatten. Das Gewichtsverhältnis von Droge zu Extraktionsmittel ist bei der Methode der Ph. H. IV 1:20. Bei der Methode von Fromme (1911) beträgt es 1:15, ohne daß tiefere Werte durch unvollständige Extraktion bedingt würden, wie Dichgans³ fand. Da nach Lowin⁴ das Psychotrin therapeutisch wertlos ist, erscheint uns eine Ätherextraktion der mit Ammoniak alkalisierten Droge, wie sie bereits die Methode der Ph. H. IV verlangt, am zweckmäßigsten. Es werden auf diese Weise die ätherlöslichen Alkaloide bestimmt, also zum weitaus größten Teil das geschätzte Emetin und Cephaelin und in geringen Mengen in Wirkung und chemischen Eigenschaften noch unbekannte Basen⁵.

Das Alkalisieren der Droge mit Natronlauge ist ganz zu verwerfen, da Cephaelin ein wasserlösliches Phenolat bildet⁶ und damit für die Bestimmung verloren geht, wie Fromme⁷ und Frerichs⁸ nachgewiesen haben. Auf dieser Eigenschaft des Cephaelins beruht auch die von Paul und Cownley⁹ schon

¹ Vgl. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, 72 ff.

² O. Keller, Arch. Pharm. **249**, 517 (1911).

³ H. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, 88.

⁴ C. Lowin, Über die Ipecacuanhaalkaloide, Dissertation Rostock, 1902.

⁵ Nach den Untersuchungen von Frerichs (Arch. Pharm. **240**, 390 [1902]) soll Psychotrin durch Natriumkarbonat nicht freigesetzt werden. Durch Ausfällen der Alkaloide mit Soda hätte man also auch die Möglichkeit, bei Chloroformextraktion der Droge das Psychotrin zu eliminieren.

⁶ R. Wolffenstein, Die Pflanzenalkaloide, Berlin 1922, 419.

⁷ G. Fromme, Geschäftsbericht Caesar & Loretz 1901, XLVIII.

⁸ G. Frerichs und N. de Füentes Tapis, Arch. Pharm. **240**, 390 (1902).

⁹ B. H. Paul und A. J. Cownley, Pharm. Journ. **53**, 61 (1893); **54**, 111, 690 (1894).

angegebene und von Fromme¹ etwas modifizierte Methode zur getrennten Bestimmung von Cephaelin und Emetin.

In neuerer Zeit wurde das von Fromme² in den Jahren 1909 und 1914 etwas verbesserte Panchaud-Verfahren weiter abgeändert, indem der Indikator Methylrot, der von anderer Seite³ empfohlen worden war, zur Titration benutzt wurde.

Die Methode⁴ lautet:

6 g feingepulverte Wurzel werden mit 60 g Äther in einer Arzneiflasche von 200 ccm Inhalt und 5 g Ammoniak (10 %) eine halbe Stunde öfters durchgeschüttelt, einige Zeit zur Klärung beiseite gestellt, 50 g Ätherlösung durch Watte in einen Erlenmeyer abgegossen (= 5 g Droge), abdestilliert, der Rückstand in 10 ccm Spiritus gelöst, mit 10 ccm Wasser und 3 Tropfen Methylrot versetzt und mit 0,1 N-HCl bis zum Farbumschlag titriert. Während der Titration gibt man noch 30 ccm Wasser zu.

1 ccm 0,1 N-HCl entspricht 0,0241 g Emetin + Cephaelin.

Auch die Methode der Pharmacopoea Nederlandica V⁵ verwendet Methylrot als Indikator. Kolthoff⁶ empfiehlt den Gebrauch von Bromphenolblau, um in alkoholischen Lösungen einen scharfen Umschlag zu erhalten. Der Farbenwechsel von Schmutzgrün nach Schmutziggelb ist unseres Erachtens nicht befriedigend.

Von den neu vorgeschlagenen Indikatoren verdient entschieden das Methylrot besondere Beachtung, da es die größte Färbekraft besitzt und sich deshalb besonders zur Titration gefärbter Drogenauszüge eignet.

Die neueren Untersuchungen von Hesse⁷, Carr und Pyman⁸ und Karrer⁹ über die Brechwurzelalkaloide haben die Zusammensetzung von Emetin und Cephaelin soweit abgeklärt, daß wir heute mit großer Sicherheit für die beiden Alkaloide folgende Bruttoformeln annehmen können:

¹ G. Fromme, Geschäftsbericht Caesar & Loretz 1903, LII.

² G. Fromme, Geschäftsbericht Caesar & Loretz 1909, 97; 1914, 94.

³ J. Herzog, Apoth.-Ztg. **35**, 216 (1920); O. Frey, Expreßanalysen für Drogen und galenische Präparate mit Methylrot als Indikator, Wien 1911, 15.

⁴ Geschäftsbericht von Caesar & Loretz 1924, 280.

⁵ Nederlandsche Pharmacopoe, Vijfde uitgave 1926.

⁶ I. Kolthoff, Pharm. Weekblad **62**, 478 (1925).

⁷ O. Hesse, A. **405**, 1 (1914).

⁸ Carr und Pyman, Soc. **105**, 1591 (1914).

⁹ P. Karrer, B. **49**, 2057 (1916); **50**, 582 (1917).

		Äquivalentgewicht:
Emetin	$C_{29}H_{40}N_2O_4$	240,24
Cephaelin	$C_{28}H_{38}N_2O_4$	233,23

Es ergibt sich also für das Gemisch ein mittleres Äquivalentgewicht von 236,7, welches sich auch für die Berechnung titrimetrischer Bestimmungen empfiehlt¹. Die verschiedenen Arzneibücher, die eine Titration der Alkaloide vornehmen lassen, geben, entsprechend älteren Molekulargewichtsbestimmungen, recht abweichende Äquivalentgewichte an:

Ph. Americana IX (1910)	240
Ph. Belgica III (1906)	254
Ph. Germanica V (1911)	248
Ph. Helvetica IV (1907)	241
Ph. Hungarica III (1909)	241
Ph. Japonica (1907)	241
Ph. Nederlandica IV (1905)	254
Ph. Suevica IX (1908)	254

Die Alkaloide Emetin und Cephaelin finden sich nicht in gleichen Mengen in der Droge². Die Fehler, die man aber bei Berechnung mit einem mittleren Äquivalentgewicht begeht, sind klein und praktisch von geringer Bedeutung, wie schon Dichgans³ berechnet hat.

In der Absicht, die Methode der Pharmacopoea Helvetica IV, die in ihrem Prinzip heute noch gültig ist, den kurz zusammengefaßten Neuerungen anzupassen und zu verbessern, unternahmen wir eine Reihe von Versuchen, wobei wir speziell die Verminderung der Drogenmenge und die Titration mit Methylrot studierten.

Nach Kolthoff⁴ ist Emetin als zweisäurige Base mit einer zweiten Dissoziationskonstanten von noch $\pm 2 \times 10^{-7}$ mit Methyl-

¹ Für die Berechnung sämtlicher Bestimmungen dieser Arbeit wurde das Äquivalentgewicht 237 zugrunde gelegt.

² Nach Paul und Cownley [Pharm. Journ. 56, 321 (1896)] enthält die offizielle Rio-Ipecacuanha durchschnittlich:

1,45 %	Emetin
0,52 %	Cephaelin
0,04 %	Psychotrin.

³ H. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, 90.

⁴ I. Kolthoff, Pharm. Weekblad, 62, 478 (1925).

rot sehr gut titrierbar. Ähnliche Verhältnisse lassen sich wohl auch für das nahe verwandte Cephaelin vermuten. Wir haben Titrationen mit reinen Alkaloiden und Methylrot als Indikator ausgeführt, die sehr befriedigende Resultate lieferten, wie das folgende Beispiel zeigt:

I. 0,0368 g lufttrockene Cephaelinbase ($C_{28}H_{38}N_2O_4 \cdot H_2O$) wurden in ca. 1 ccm Weingeist gelöst, mit Wasser stark verdünnt bis zur beginnenden Trübung, 2 Tropfen Methylrotlösung zugesetzt und die gelbe Lösung mit 0,1 N-HCl bis zum Farbumschlag nach Rot titriert. 1 ccm 0,1 N-HCl entspricht 0,02422 g Cephaelin $\cdot H_2O$.

Verbraucht wurden 1,51 ccm 0,1 N-HCl, entsprechend 0,0366 g Cephaelin $\cdot H_2O$.

II. 1 ccm einer ca. 0,1 N-Lösung von Emetinhydrochlorid zeigt mit Methylrot eine Zwischenfarbe von Rötlichgelb. Die Lösung wurde mit 5,01 ccm 0,1 N-HCl versetzt und verbrauchte bei der Rücktitration 5,02 ccm 0,1 N-NaOH bis zum Umschlag von Rot nach Gelb.

Wir kommen daher zum Schlusse, daß die Basen Emetin und Cephaelin sich sehr gut mit Methylrot als Indikator titrieren lassen. Der Umschlag ist in stark verdünnter alkoholischer Lösung scharf.

Die Frage, ob die Alkaloide direkt oder indirekt titriert werden sollen, haben wir schon bei der Wertbestimmung der Chinarinde geprüft. Wir entschlossen uns bei der Titration der Ipecacuanha-Alkaloide für den indirekten Modus aus folgenden Gründen:

Die extrahierten Alkaloide sind von harzartigen Stoffen begleitet und bilden nach Abdestillieren des Lösungsmittels einen gelbbraunen durchsichtigen Firnis, der in Alkohol sehr leicht löslich ist. Die alkoholische Lösung trübt sich aber schon beim Verdünnen mit der gleichen Menge Wasser. Es entsteht ein stark milchig getrübbtes, gelbgrünes System, das oft leicht fluoresziert und bei direkter Titration mit 0,1 N-HCl und Methylrot keinen scharfen, befriedigenden Umschlag erkennen läßt.

Daß beim Verdünnen mit Wasser die harzartigen Körper in erster Linie ausfallen, konnten wir durch vergleichende Versuche mit reinen Alkaloiden konstatieren. Die Basen sind noch in stark verdünntem Weingeist löslich. Ein Titrationsmodus, wie wir ihn bei der Bestimmung der Chinaalkaloide benützten, führt in diesem Falle also zu keinem Ergebnis. Wir versuchten daher, die störenden Harze auf einfache Weise zu eliminieren. Die

Titration in einem Petroläther-Wassersystem mißlang, da starke Trübungen auftraten, die den Umschlag von Methylrot unscharf erscheinen ließen. Dagegen führte nach einigen orientierenden Versuchen das folgende Vorgehen zu einem befriedigenden Resultat:

Der Alkaloidrückstand wird in möglichst wenig Weingeist gelöst (evtl. unter Erwärmen auf dem Wasserbade) und 5 ccm 0,1 N-HCl zugefügt. Dabei entsteht eine Trübung durch die ausfallenden Harzkörper. Läßt man einige Zeit stehen und verdünnt mit 20 ccm Wasser, so flocken die Harze aus, wobei die Lösung der Alkaloide beinahe klar wird. Die Rücktitration läßt sich nun mit 0,1 N-NaOH und Methylrot leicht ausführen. Der Umschlag von Nelkenrot nach Gelb ist gut sichtbar.

Einschließen der Alkaloide durch ausgeschiedene Harze, wie es Dichgans¹ beim Verdünnen der alkoholischen Lösung des Rückstandes annimmt, konnten wir nie konstatieren. Wir erhielten bei indirekter und direkter Titration dieselben Werte. Droge C nach der Methode von Fromme (1924) bestimmt:

- | | | |
|--|--------|---------|
| a) direkt titriert | 1,99 ‰ | 2,05 ‰ |
| b) indirekt titriert nach unserer Modifikation | 2,00 ‰ | 1,97 ‰. |

Bestimmungsmethode.

Während Fromme² in seiner Modifikation der Kellerschen Methode 12 g Drogenpulver und in späteren Abänderungen des Verfahrens noch 6 g benutzte, führten wir versuchsweise Bestimmungen mit 3 g Droge aus nach folgender Variation der Frommeschen Methode von 1924:

- 3,00 g feingepulverte Brechwurzel (Sieb VI) werden in einer Arzneiflasche von ca. 125 ccm Inhalt mit
60,0 g Äther versetzt und
2,5 ccm Ammoniak (10 ‰) zugefügt.
Man schüttelt während einer halben Stunde häufig und kräftig, läßt absetzen und gießt
50,0 g (= 2,5 g Droge) der Ätherlösung durch ein Bäschchen Watte in einen Erlenmeyerkolben von 150 ccm. Man destilliert den Äther auf dem Wasserbad ab, nimmt den Rückstand dreimal mit je

¹ H. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, 92.

² G. Fromme, Geschäftsbericht von Caesar & Loretz, 1899, LIX; 1905, XCIII.

5 ccm Äther auf, dampft jedesmal völlig ab und löst dann in 1 ccm Weingeist. Zu dieser Lösung gibt man unter Umschwenken 5,0 ccm 0,1 N-HCl, 3 Tropfen Methylrotlösung und 20 ccm Wasser und läßt einige Minuten stehen. Dann titriert man mit 0,1 N-NaOH unter Verwendung einer Mikrobürette bis zum Umschlage von Nelkenrot nach Gelb. 1 ccm 0,1 N-HCl entspricht 0,0237 g ätherlöslichen Alkaloiden.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen vier Drogenmuster:
 Droge A I Pulver von der ganzen Wurzel (Sieb V)
 Droge A II Pulver von der ganzen Wurzel (Sieb VI)
 Droge C Pulver von der Wurzelrinde nach Ph. H. IV
 Droge D Pulver von der Wurzelrinde nach Ph. H. IV
 und erhielten folgende Werte:

Droge A I:	A II:	C:	D:
1,84 ‰	1,91 ‰	1,99 ‰	2,49 ‰
1,88 ‰	1,90 ‰	1,99 ‰	2,50 ‰
1,88 ‰		2,04 ‰	
		1,97 ‰	

Bestimmungen, die wir zu Vergleichszwecken nach anderen Methoden ausführten, ergaben übereinstimmende Werte:

	Droge C:	Droge D:
nach Methode der Ph. H. IV (mit Methylrot als Indikator)	1,99 ‰	
nach Methode Fromme 1924	1,99 ‰	2,41 ‰
nach Methode der Ph. Hungarica III	2,03 ‰	
	2,02 ‰	

Von Interesse sind die Werte, die wir bei der Droge A erhielten. Die beiden Muster I und II unterscheiden sich nur durch den Feinheitsgrad und zeigen regelmäßig eine geringe Differenz im Alkaloidgehalt, die sich wohl durch eine nicht so vollständige Extraktion des gröbereren Pulvers (Muster I) erklärt.

In weiteren Versuchen wurde die Extraktionsdauer geprüft. Schon Dichgans¹ wies nach, daß die Vorschrift der Ph. Hungarica III mit einer eigentlichen Extraktionsdauer von einer Viertelstunde gute Resultate liefert. Wir haben, wie die Methode von Fromme (1924), eine halbstündige Extraktion unter häufigem und kräftigem

¹ H. Dichgans, Dissertation Bern, 1913, 86.

Umschütteln als Basis angenommen und durch vergleichende Bestimmungen mit ein- und zweistündiger Extraktion auf der Schüttelmaschine die erhaltenen Werte bestätigt.

	Extraktionsdauer:	Gefundener Alkaloidgehalt:	
Droge A I	1/2 Stunde	1,85 %	1,84 %
	1 Stunde	1,88 %	1,85 %
	2 Stunden	1,82 %	
Droge A II	1/2 Stunde	1,91 %	
	2 Stunden	1,91 %	

Eine halbstündige Extraktionsdauer ist daher bei dem vorgeschriebenen Feinheitsgrad des Drogenpulvers ausreichend.

Frerichs und de Fñentes Tapis¹ beobachteten beim Trocknen des Alkaloidrückstandes bei 100° eine starke Färbung, die sie hauptsächlich einer Zersetzung des Psychotrins zuschreiben. Die Färbung, die durch Zersetzung von Emetin und Cephaelin eintreten soll, ist nach ihrer Ansicht viel geringer. Daß ein längeres Stehenlassen des Alkaloidrückstandes bei höherer Temperatur und die dabei eintretende deutliche Dunkelfärbung durch eine schon von Panchaud² und E'we und Vanderkleed³ vermutete Zersetzung der Alkaloide Verluste bedingt, haben wir bestätigen können. Sie sind aber, wie nachfolgende Resultate zeigen, so gering, daß sie für die Praxis nicht in Frage kommen.

Droge A I Rückstand 3 Stunden auf dem Wasserbad . . . 1,81 %.

Droge A II Rückstand 2 Stunden auf dem Wasserbad . . . 1,86 %.

Die von uns gegebene Modifikation der Methode Fromme 1924 zeigt mindestens eine theoretische Maximalstreuung von 0,06 % (nach Benedetti-Pichler⁴ berechnet). Weitere Bestimmungen, die wir nach dem vorgeschlagenen Verfahren ausführten, ergaben folgende Werte:

Droge A, Muster I:

in 2,5 g Droge	0,04621 g Alkaloide = 1,85 %	D = 0,04
in 2,5 g Droge	0,04693 g Alkaloide = 1,88 %	
in 2,5 g Droge	0,04597 g Alkaloide = 1,84 %	

Mittel 1,86 %.

¹ G. Frerichs und N. de Fñentes Tapis, Arch. Pharm. **240**, 390 (1902).

² A. Panchaud, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **41**, 495 (1903).

³ E'we und Vanderkleed, Proc. Pennsylvania Pharm. Ass. 1914, 277.

⁴ Benedetti-Pichler, Ztschr. f. analyt. Ch. **61**, 305 (1922).

Droge A, Muster II:

in 2,5 g Droge	0,04764 g Alkaloide	= 1,91 ‰	D = 0,02
in 2,5 g Droge	0,04764 g Alkaloide	= 1,91 ‰	
in 2,5 g Droge	0,04722 g Alkaloide	= 1,89 ‰	
	Mittel	1,90 ‰.	

Droge C

in 2,5 g Droge	0,04977 g Alkaloide	= 1,99 ‰	D = 0,06
in 2,5 g Droge	0,05119 g Alkaloide	= 2,05 ‰	
in 2,5 g Droge	0,04977 g Alkaloide	= 1,99 ‰	
	Mittel	2,01 ‰.	

Droge D

in 2,5 g Droge	0,06233 g Alkaloide	= 2,49 ‰	D = 0,05
in 2,5 g Droge	0,06256 g Alkaloide	= 2,50 ‰	
in 2,5 g Droge	0,06115 g Alkaloide	= 2,45 ‰	
	Mittel	2,48 ‰.	

Die vorgeschlagene Modifikation der Methode Ph. H. IV zeigt folgende Verbesserungen:

1. Es werden nur 3 g Droge verwendet statt 6 g; die Menge des benötigten organischen Lösungsmittels beträgt entsprechend nur 60 g statt 120 g.
2. Die letzten Reste des Ammoniaks werden durch dreimaliges Aufnehmen des Rückstandes mit Äther und jedesmaliges vollständiges Abdampfen sicher vertrieben.
3. Die Titration unter Verwendung von Methylrot als Indikator statt Hämatoxylin ist einfacher und zeigt in unserer Ausführungsform einen scharfen, gut sichtbaren Umschlag.
4. Die Berechnung geschieht mit dem mittleren Äquivalentgewicht 237, das den neuesten Forschungen entspricht.

Die Wertbestimmung der Hydrastiswurzel.

Das Problem der Hydrastinbestimmung in Rhizoma Hydrastidis und seinen galenischen Präparaten hat schon seit Jahren einer großen Zahl von Vorschlägen für Bestimmungsmethoden gerufen. Wir erwähnen nur zur Orientierung die älteren Arbeiten von Keller¹, Linde² und Rusting³, die als Grundlage für eine Reihe späterer Publikationen von Beuttner⁴, Heyl⁵, van der Haar⁶, Fromme⁷, Dávid⁸, van den Berg⁹ und de Waal¹⁰ dienen. Die meisten dieser Autoren haben als Untersuchungsobjekt das Fluidextrakt verwendet und besonders folgende zwei Operationen abzuklären gesucht:

1. Vorbereitung des Extraktes für eine günstige Isolierung des Alkaloides.
2. Reinigung des extrahierten Hydrastins, das gravimetrisch zur Bestimmung gelangt.

Die ausführlichen Zusammenstellungen von Derlin¹¹ und Jäggi¹² erübrigen ein näheres Eintreten auf die vielen Vorschläge, die alle als Modifikationen der Verfahren von Keller, Linde und Rusting aufzufassen sind.

¹ C. C. Keller, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **32**, 56 (1894).

² O. Linde, Pharm. Zentralh. **36**, 349 (1895); **40**, 97 (1899).

³ N. Rusting, Pharm. Zentralh. **39**, 787 (1898); **40**, 365 (1899).

⁴ G. Beuttner, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **41**, 242 (1903).

⁵ G. Heyl, Apoth.-Ztg. **21**, 797 (1906); **22**, 907 (1907).

⁶ A. W. van der Haar, Apoth.-Ztg. **21**, 1050 (1906); **22**, 1058 (1907).

⁷ G. Fromme, Geschäftsbericht von Caesar & Loretz 1908, LXXVI, LI.

⁸ L. Dávid, Pharm. Post **48**, 1 (1915).

⁹ J. M. van den Berg, Pharm. Weekblad **56**, 1124 (1919).

¹⁰ J. W. de Waal, Pharm. Weekblad **52**, 1423 (1915).

¹¹ L. Derlin, Apoth.-Ztg. **25**, 190, 303 (1910).

¹² Jäggi, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **48**, 629 (1910).

In neuerer Zeit hat Dichgans¹ die Titration des Hydrastins mit Hilfe von Äthyl- oder Methylorange als Indikator empfohlen. Die Verwendung von Methylrot als Indikator wurde von Frey² und Fromme³ angegeben.

Wir haben mit diesen Indikatoren bei den stark gelb gefärbten Lösungen, wie sie bei Hydrastisextrakten auftreten, keine befriedigenden Resultate erzielt. Mit Methylorange sind Farbumschläge unmöglich scharf zu erkennen und Vergleichslösungen unerlässlich. Etwas besser, aber immer noch nicht scharf genug sind die Umschläge mit Methylrot, was schon van den Berg⁴ bemerkte. Wales⁵ fand mit Methylrot und Bromphenolblau keinen Endpunkt.

Nach Titrationsversuchen, die wir mit Hydrastinhydrochlorid „Merck“ ausführten, läßt sich Hydrastin sehr wohl mit Methylorange als Indikator titrieren. Methylrot dagegen eignet sich nicht gut, da der Umschlag unscharf ist. Bromphenolblau ist nach unseren Erfahrungen dem Methylorange noch vorzuziehen, weil der Umschlag besser sichtbar ist.

Ca. 0,03 g Hydrastinhydrochlorid, in 20 ccm 50 % igem Alkohol gelöst, wurden mit 2,00 ccm 0,1 N-HCl und 4 Tropfen (0,5 %₁₀₀) Bromphenolblaulösung versetzt. Zur Rücktitration wurden in einem Falle 2,01 ccm, in einem zweiten 2,02 ccm 0,1 N-NaOH verbraucht.

Nach Kolthoff⁶ ist Hydrastin als eine sehr schwache Alkaloidbase nur elektrometrisch gut titrierbar.

Alle Indikatoren haben sich bei der Titration des Alkaloides, wie es aus der Droge ohne weitgehende Reinigungsmaßnahmen erhalten wird, unseres Erachtens als unzulässig erwiesen.

Wir möchten daher für die Wertbestimmung der Hydrastiswurzel die gravimetrische Analyse, wie sie bis anhin fast allgemein vorgeschlagen wurde, beibehalten.

¹ H. Dichgans, Vergleichende Untersuchungen der in die Pharmakopöen aufgenommenen Wertbestimmungsmethoden starkwirkender Drogen. Dissertation Bern, 1913, 166.

² O. Frey, Expreßanalysen für Drogen und galenische Präparate mit Methylrot als Indikator, Wien 1911, 21.

³ G. Fromme, Geschäftsbericht von Caesar & Loretz 1924, 283.

⁴ J. M. van den Berg, Pharm. Weekblad 56, 1124 (1919).

⁵ H. Wales, Ind. and eng. Chem. 18, 390 (1926).

⁶ I. Kolthoff, Ztschr. f. anorg. u. allgem. Ch. 112, 196 (1920).

Im Hydrastisrhizom finden sich neben dem wirksamen Hydrastin noch die Alkaloide Berberin und Canadin, die aber für die physiologische Wirkung der Droge nicht von Belang sind.

Eine kurze Betrachtung der Löslichkeiten der drei genannten Alkaloide läßt schon gewisse Trennungsmöglichkeiten erkennen.

Berberin ist fast unlöslich in Äther, Benzol, Essigäther, Ligroin, löslich in Alkohol, leicht löslich in Wasser.

Canadin ist unlöslich in Wasser, ziemlich löslich in Alkohol, sehr leicht löslich in Äther, Benzol, Chloroform.

Hydrastin ist unlöslich in Wasser, ziemlich löslich in Äther und Alkohol, leicht löslich in Benzol und Chloroform¹.

Berberin und Hydrastin lassen sich also durch verschiedene Extraktionsmittel (Äther, Benzol, Wasser) grob trennen. Der von verschiedenen Methoden² angegebene Zusatz von Kaliumjodid, der eine Trennung von Berberin und Hydrastin auf Grund der verschiedenen Wasserlöslichkeit der beiden Hydrojodide bewirken soll, wird neuerdings von Mackie und Cleary³ anders begründet. Nach ihnen soll dem Kaliumjodid als Elektrolyt eine kolloidfällende Wirkung zukommen. Die Fällung von Berberin als Hydrojodid ist erst nach längerer Zeit quantitativ.

Das Canadin, das sich bezüglich der Löslichkeiten dem Hydrastin sehr ähnlich verhält, ist praktisch auf einfache Weise nicht zu trennen von Hydrastin⁴. Die Methoden zur Hydrastinbestimmung in Rhizoma Hydrastidis bestimmen also in Wirklichkeit Hydrastin + Canadin. Dazu kommen, wie wir später zeigen werden, auch noch sehr kleine Mengen Berberin, wenn Äther als Extraktionsmittel verwendet wird. Berberin ist in diesem Lösungsmittel allerdings schwer, aber doch nicht unlöslich, und Gegenwart von Wasser erhöht die Löslichkeit.

Keller und später Panchaud⁵ empfahlen die mit Ammoniak alkalisierte Droge mit Äther zu extrahieren. Ein Ausziehen mit

¹ Nach Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, III. Aufl., Bd. II, 2050, Bd. III, 798, 804.

² W. A. Puckner, Pharm. Review **12**, 132 (1908), referiert in Jahresbericht für Pharm. **43**, 230 (1909); Pharmacopoea Britannica 1914; U. S. P. X. 1917.

³ H. B. Mackie und H. A. Cleary, Pharm. Journ. **115**, 145 (1925).

⁴ Auf den Versuch Rustings kommen wir später zu sprechen.

⁵ A. Panchaud, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. und Ph. **41**, 571 (1903).

Chloroform oder Benzol wäre eigentlich noch gerechtfertigter, birgt aber andere Schwierigkeiten in sich, da die so erhaltenen Auszüge intensiv gefärbt sind. Als weitere Möglichkeit bleibt die Extraktion mit einem Gemisch von Solventien. Es hat sich gezeigt, daß Petroläther die Lösung der gelbfärbenden, verunreinigenden Stoffe stark herabsetzen kann. Andererseits ist aber Hydrastin in Petroläther schwer löslich, und Gemische mit Petroläther sind sehr kritisch auf das Lösungsvermögen für Hydrastin zu prüfen. Äther-Petroläthergemenge, wie sie Linde und Fromme zur Drogenextraktion verwendet haben, sind nicht zu empfehlen, da die an sich schon nicht sehr große Löslichkeit des Hydrastins in Äther praktisch nur kleine Petrolätherzusätze erlaubt, die keine merklichen Vorteile bieten, wie Fromme¹ später selbst konstatierte.

Wir haben zur Orientierung einige Extraktionsversuche mit Gemischen vorgenommen.

Je 1,0 g Hydrastispulver wurde mit je 8 g verschiedener Lösungsmittel und 1 ccm Ammoniak durch halbstündiges Schütteln extrahiert. Die Lösungen wurden durch Watte filtriert und in Glasschalen zum Verdunsten beiseite gestellt.

	Lösungsmittel	Drogenauszug	Rückstand
1	Benzol 4,0 Petroläther 4,0	hellgelb	gelbbraun, firnisartig
2	Benzol 2,0 Petroläther 6,0	blaßgelb	wenig gelber Firnis, daneben gut ausgebildete Kristalle
3	Benzol 5,0 Petroläther 3,0	gelb	gelbbraun, firnisartig
4	Benzol 8,0	intensiv gelb	braun, firnisartig
5	Petroläther 8,0	sehr schwach gelb	sehr geringer hellgelber Firnis
6	Äther 8,0	gelb	gelber Firnis neben vereinzelt Kristallen
7	Äther 6,5 Petroläther 1,5	gelb	gelber Firnis neben vereinzelt Kristallen

¹ G. Fromme, Geschäftsbericht von Caesar & Loretz 1906, L.

Nach diesen Ergebnissen haben wir das Extraktionsgemisch 2, das sich am besten bewährt hatte, quantitativ geprüft. Leider erwies sich aber die verwendete Benzolmenge, wie wir vermuteten, als zu gering, und die erhaltenen Werte verrieten eine ganz ungenügende Extraktion. Mit einem Gemisch von 15 g Benzol und 45 g Petroläther auf 3 g Droge erhielten wir statt 3% Hydrastin nur 1,9%. Versuch 7 zeigt, daß geringer Petrolätherzusatz zu Äther keinen Vorteil bietet. Die Extraktion mit Äther erscheint nach unseren Versuchen immer noch als das einfachste und beste.

Die weitere Reinigung der Drogenauszüge hat in der Hauptsache zwei verschiedene Verfahren entstehen lassen: das Kellersche und das Rustingsche Verfahren mit ihren verschiedenen Modifikationen.

Die alte Kellersche Methode wurde mit vielen kleinen Modifikationen, wie denjenigen von Linde, Heyl, Panchaud, Fromme empfohlen. Das Prinzip ist folgendes:

Die mit Ammoniak alkalisierte Droge wird mit Äther extrahiert. Diesem entzieht man die Alkaloide durch wiederholtes Ausschütteln mit stark verdünnter Salzsäure. Aus der sauren wäßrigen Lösung wird nach Alkalisieren mit Ammoniak das Hydrastin und Canadin mit Äther wieder extrahiert. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels werden die Alkaloide gravimetrisch bestimmt.

Das Verfahren der Ph. H. IV läßt die Reinigungsoperationen durch Ausschütteln stets quantitativ ausführen, während die Modifikationen von Linde, Heyl und Fromme die Alkaloide aus der wäßrig ammoniakalischen Lösung mit einer einmaligen größeren Menge Äther ausschütteln, von der ein aliquoter Teil zur Bestimmung gelangt. Dieses Verfahren ist weniger zeitraubend, verringert aber die zur Bestimmung gelangende Drogenmenge weiter und vergrößert so die Streuung der erhaltenen Werte.

Wie wir uns durch entsprechende Versuche mit reinem Hydrastin überzeugen konnten, wird übrigens durch das Abgießen der aliquoten Menge Ätherlösung durch etwas Watte ein beträchtlicher Verdunstungsfehler erhalten. Es entstehen infolge Konzentrierung der Lösung zu hohe Werte.

1. 0,0614 g Hydrastinhydrochlorid (= 0,05607 g Hydrastin) wurde in einer Arzneiflasche in 30 ccm 1%iger Salzsäure gelöst, mit 50 g Äther

versetzt, umgeschüttelt, 5 ccm Ammoniak zugefügt und einige Minuten geschüttelt. Dann wurden 3 g Traganthpulver zugesetzt, kräftig geschüttelt, sogleich durch Watte filtriert und 40 g der Lösung (= 0,04485 g Hydrastin) in einem tarierten Kolben abdestilliert, der Rückstand getrocknet und gewogen. Resultat: 0,0471 = 105,7 %, auf 2 g Droge berechnet 2,37 % (statt 2,24 %).

- II. 0,0767 g Hydrastinhydrochlorid (= 0,07004 g Hydrastin) wurde in 25 ccm 1 %iger Salzsäure gelöst, mit 60 g Äther und 5 ccm Ammoniak während einer halben Stunde unter häufigem Schütteln extrahiert. Dann wurde durch Watte die Ätherlösung abgegossen und 50 g davon im Scheidetrichter nacheinander mit 10 — 5 — 5 — 5 ccm 1 %iger Salzsäure gut ausgeschüttelt. Die gesammelten sauren Ausschüttelungen wurden in einer Arzneiflasche mit 50 g Äther und 5 ccm Ammoniak einige Minuten ausgeschüttelt, 3 g Traganthpulver zugesetzt und kräftig geschüttelt. Dann wurde durch Watte filtriert und 40 g der Lösung (= 0,04669 g Hydrastin) abdestilliert, getrocknet und gewogen.

Resultat: 0,0493 = 105,6 %, auf 2 g Droge berechnet 2,46 % (statt 2,33 %).

Das Abpipettieren der Flüssigkeitsmengen, wie es Linde¹ vorgeschlagen hat, gibt nach unseren Erfahrungen keine besseren Werte, da es ähnliche Fehlerquellen birgt.

Die Ätherlösung, die man nach der Kellerschen Methode mit ihren Modifikationen erhält, ist schwach gelb, und die Rückstände derselben sind fast stets amorph und gelb bis gelbbraun gefärbt. Bei langsamem Verdunstenlassen des Lösungsmittels können gut ausgebildete Kristalle erhalten werden neben geringen Mengen gelbem Firnis.

Das Rustingsche Verfahren mit seinen verschiedenen vorgeschlagenen Abänderungen von van der Haar, Rupp, Derlin und de Waal liefert im Gegensatz zur erwähnten Methode ein schwach gelb gefärbtes, kristallines Hydrastin. Als Typus für diese Verfahren diene uns die von der Pharmacopoea Nederlandica V aufgenommene Variante²:

Man schüttelt 3 g Hydrastispulver (B₉₀) mit 60 ccm Äther und 2,5 ccm Ammoniak kräftig während einer halben Stunde, gibt 3 ccm Wasser zu, schüttelt nochmals kräftig, läßt absitzen und schüttelt 50 ccm der klaren ätherischen Lösung erst mit 10 ccm, dann dreimal mit 5 ccm Salzsäure (1 %) aus. Man sammelt die sauren Ausschüttelungen, fügt 25 ccm Äther und 5 ccm Ammoniak zu. Man schüttelt kräftig einige Minuten, fügt

¹ O. Linde, Pharm. Zentralh. 40, 97 (1899).

² Nederlandsche Pharmacopoe, Vijfde uitgave 1926.

25 ccm Petroläther (65—80° Sdp.) und 4 g Tragantpulver zu, schüttelt nochmals kräftig bis die ätherische Lösung klar ist, destilliert sofort von 40 ccm Filtrat (= 2 g Droge) in einem tarierten Kolben 32 ccm ab und fügt, falls noch keine Kristallisation stattfindet, ein Kriställchen Hydrastin zu. Dann läßt man das geschlossene Kölbchen 12 Stunden an einem kühlen Ort stehen, gießt die Lösung klar ab und trocknet. Das Gewicht des Hydrastins soll mindestens 40 mg betragen.

Neu ist beim Rustingschen Vorschlag die Extraktion des Alkaloides aus der wäßrigen Lösung mit Äther unter nachherigem Petrolätherzusatz und das Weggießen der letzten Petroläthermutterlaugen nach dem Auskristallisieren des Hydrastins. Der Petroläther-Zusatz hat folgenden Zweck:

1. gestattet er eine weitere Reinigung. Die Äther-Petrolätherlösungen sind fast farblos, was hauptsächlich auf eine Entwässerung zurückzuführen ist. Die Äther-Petroläthermischung ist bedeutend wasserärmer als eine Ätherlösung allein, und es werden entsprechend weniger wasserlösliche Verunreinigungen mitgeschleppt;
2. dient er als Kristallisationsmittel;
3. sollen durch das Weggießen der letzten Petrolätherreste geringe Mengen gelöster gelber, amorpher Stoffe (nach Rusting hauptsächlich Canadin) entfernt werden.

Die Verwendung von Petroläther für die sub 1 und 2 genannten Zwecke ist entschieden von Vorteil. Anders verhält es sich dagegen mit der sub 3 erwähnten Reinigungsoperation. Eine völlige Trennung eines Gemisches von gleichen Teilen Äther und Petroläther ist, obschon die Komponenten etwas verschiedene Siedepunkte aufweisen, durch einfaches Abdestillieren aus einem Kolben bis auf ein Fünftel des Volumens unmöglich. Es werden je nach angewandter Apparatur, Destillationsgeschwindigkeit und je nach der Petroläthersorte (Sdp.) variierende Mengen Äther in der Mutterlauge zurückgehalten, und damit ist auch die Löslichkeit des Hydrastins in diesen Petrolätherresten erheblichen Schwankungen unterworfen.

Fromme¹ fand folgende Werte bei der Bestimmung einer Droge nach Rusting²:

¹ G. Fromme, Geschäftsbericht von Caesar & Loretz 1908, L.

² N. Rusting, Pharm. Zentralh. 39, 787 (1898).

- a) Wegkochen von Äther und Petroläther rasch 3,17 ‰ 3,24 ‰.
b) Wegkochen von Äther und Petroläther langsam 2,58 ‰ 2,40 ‰.

Stets konnte er in den vom Hydrastin abgegossenen Petrolätherresten Hydrastin nachweisen, was auch Linde¹, Heyl² und andere schon konstatierten.

Van der Haar³ ergänzte die Methode von Rusting durch folgende Angaben:

Der Petroläther soll einen Siedepunkt 50—75° besitzen. Sind Anteile vorhanden, die einen Siedepunkt haben, der nicht weit genug von dem des Äthers entfernt ist, so wird Äther in den 10 g Lösung zurückbleiben und Hydrastin dauernd in Lösung bleiben.

Er änderte die Methode daher etwas ab, indem er stets 5 ccm Petroläther (Sdp. 50—75°) den 40 ccm abgegossener Lösung setzte, um sicher zu sein, daß die 10 g restierende Lösung frei sind von mehr als Spuren Äther. Einen analogen Vorschlag machte de Waal⁴. Jäggi⁵ empfahl, bis auf 2—3 ccm abzudestillieren. Heyl schlug schließlich vor, das Äther-Petroläthergemisch ganz abzudestillieren, um die steten, aber sehr schwankenden Verluste zu vermeiden. Damit fällt der von Rusting so empfohlene Vorteil seiner Methode, die Trennung von Hydrastin und amorphen Körpern durch Weggießen der letzten Petroläthermutterlauge, dahin.

Um die verschiedenen widersprechenden Meinungen, die sich alle auf den Petrolätherzusatz beziehen, etwas abzuklären, haben wir mit reinem Hydrastinhydrochlorid verschiedene Versuche angestellt.

Wir prüften zuerst, ob nach der Methode von Rusting mit den weggegossenen Petrolätherresten Hydrastin verloren geht, und wie groß die allfälligen Verluste sind. Wir arbeiteten nach der Methode der Ph. Nederland. V, wobei aber statt Volumens stets Gewichtseinheiten zugrunde gelegt waren. Da aus diesem Grunde größere Flüssigkeitsvolumina auf die gleiche Alkaloidmenge

¹ O. Linde, Pharm. Zentralh. **40**, 97 (1899).

² G. Heyl, Apoth.-Ztg. **22**, 907 (1907).

³ A. W. v. d. Haar, Apoth.-Ztg. **22**, 1058 (1907).

⁴ J. W. de Waal, Pharm. Weekblad **52**, 1423 (1915), referiert in C. 1916, III, 432.

⁵ Jäggi, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Ph. **48**, 629 (1910).

fallen, sind die durch Verdunstung usw. eintretenden Fehler geringer. Gleichzeitig kamen zwei Petroläthersorten mit verschiedenem Siedepunkte zur Verwendung.

Tabelle I.

	A	B	C		D	E	F
	Hydrastin- menge g	Zur Bestimmung gelangten g	Erhaltenes Hydrastin Gewogen g	Prozent	Rückstand aus Petrol- ätherrest g	Summe von C + D g	E in Prozenten
1	0,0459	0,0306	0,0296	96,7	0,0007	0,0303	99,0
2	0,0459	0,0306	0,0288	94,1	0,0015	0,0303	99,0
3	0,0476	0,0380	0,0275	72,4	0,0098	0,0373	98,0
4	0,0777	0,0518	0,0499	96,3	0,0028	0,0527	101,7

Bei den Bestimmungen 1, 2 und 4 wurde Benzin vom Sdp. 70—80° verwendet, bei Bestimmung 3 dagegen Petroläther vom Sdp. 30—50°. Die auffallenden Differenzen in den Rückständen der Lösungsmittelreste (D) bestätigen die Richtigkeit der Angaben von Fromme, Linde und Heyl über die Trennung des Äther-Petroläthergemisches. Die Forderung von van der Haar, daß der Siedepunkt des Petroläthers 50—75° betragen soll, garantiert also auch keine richtigen Werte.

Ähnliche Verhältnisse erhielten wir bei Bestimmungen mit der Droge.

Tabelle II.

	A	B			C	D	E
	Zur Bestimmung gelangende Drogenmenge g	Erhaltenes Hydrastin			Rückstand aus Benzin g	Summe von B + C g	D in Prozenten der Droge
		Gewogen g	in Prozenten von D	in Prozenten der Droge			
1	2,0	0,0511	90,0	2,56	0,0057	0,0568	2,84
2	2,0	0,0508	88,8	2,54	0,0064	0,0572	2,86
3	2,0	0,0574	100,0	2,87	—	0,0574	2,87
4	2,0	0,0582	100,0	2,91	—	0,0582	2,91

Diese Bestimmungen wurden alle mit Benzin vom Sdp. 70—80° ausgeführt. Bei Analyse 3 und 4 wurde das Äther-Benzin-Gemisch völlig abdestilliert. In den erhaltenen Rückständen der Mutterlauge (C), die gelb und firnisartig sind, war stets Hydrastin

nachweisbar. Die von Rusting beabsichtigte quantitative Trennung von Hydrastin und gefärbten, firnisähnlichen Begleitstoffen durch Petroläther ist nicht so einfach durchzuführen. Die Verunreinigungen sind in Petroläther auch nicht gut löslich, scheiden sich gerne beim Abdestillieren auf geringe Mengen Mutterlauge (Vorschlag Jäggi) bereits an der Kolbenwandung ab, und können dann nur sehr schwer wieder in Lösung gebracht werden. Außerdem fällt bei starkem Einengen das Hydrastin beim Erkalten rasch und pulverig aus, und der Petrolätherrest läßt sich oft gar nicht völlig abgießen, ohne daß Alkaloid mitgerissen wird. In diesem Falle müßte die wegzugießende Mutterlauge durch ein tariertes Filter gegossen werden, eine Komplikation der Methode, die nicht der Mühe wert ist, wenn man bedenkt, daß die ganze Menge der amorphen gelben Stoffe überhaupt sehr gering ist.

Der Vorschlag von de Waal, durch einen zweiten Petrolätherzusatz zum Äther-Petroläthergemisch vor dem Abdestillieren die quantitative Trennung der beiden Komponenten zu erleichtern, brachte auch nicht die gewünschte Verbesserung. Er wurde auch von der Ph. Nederl. V nicht aufgenommen, die sich im übrigen sehr an diese Vorschrift hielt. Unseres Erachtens sind die Verunreinigungen von sehr untergeordneter Bedeutung und rechtfertigen kaum ein Reinigungsverfahren, das beträchtliche und sicher nachgewiesene Verluste an Hydrastin verursacht. Berberin wird auch bei Anwendung dieses Reinigungsverfahrens in geringen Mengen mitbestimmt, wie wir durch Versuche feststellen konnten.

Um die Streuung der Werte zu verringern, versuchten wir naalog dem Verfahren der Ph. H. IV das Ausschütteln der Alkaloide quantitativ durchzuführen und modifizierten die holländische Methode wie folgt:

3,0 g Drogenpulver werden mit 60,0 g Äther und 4 ccm Ammoniak eine halbe Stunde ausgeschüttelt und nach dem Absitzen 50,0 g Filtrat (= 2,5 g Droge) mit 10—5—5—5 ccm Salzsäure (1 %) ausgeschüttelt. Die sauren Lösungen werden mit 25 ccm Äther und 5 ccm Ammoniak 5 Minuten geschüttelt, 25 ccm Petroläther zugefügt und stark geschüttelt. Die klare ätherische Lösung wird durch etwas Watte in einen tarierten Kolben filtriert und die wässerige Lösung nochmals analog mit 10 ccm Äther und 10 ccm Petroläther ausgeschüttelt, die zur anderen Lösung in den Kolben filtriert und mit etwas Äther nachgespült werden. Die Lösungsmittel werden dann aus dem Kolben auf einige Kubikzentimeter abdestilliert

und der Rest langsam verdunstet. Der Rückstand wird bei 100° getrocknet und gewogen.

Nach dieser Modifikation führten wir folgende Bestimmungen aus mit Hydrastin, Droge und Gemischen von beiden.

Tabelle III.

	A Verwendete Droge g	B Verwendetes Hydrastin g	C Zur Bestimmung gelangen			D Hydrastin		E Erhaltenes Hydrastin		F E in Pro- zenten auf 2,5 g Droge berechnet	G Gefundenes Hydrastin (E) — zugeführtes Hydrastin (D) g	H 2,5 g Droge entsprechendes Hydrastin in Prozenten
			Droge g	Hydrastin g	in % auf 2,5 g Droge berechnet	Gewicht g	Pro- zente					
1	—	0,0928	—	0,0773	3,1	0,0771	99,7	—	—	—		
2	—	0,0658	—	0,0548	2,2	0,0548	100	—	—	—		
3	3,0	—	2,5	—	—	0,0760	—	3,0	—	—		
4	3,0	—	2,5	—	—	0,0727	—	2,9	—	—		
5	3,0	0,0458	2,5	0,0381	—	0,0905	—	3,6	0,0524	2,1		
6	3,0	0,0288	2,5	0,0240	—	0,0877	—	3,5	0,0637	2,5		

Die Werte von Bestimmung 5 und 6 zeigen, daß nach dieser Modifikation bei hohen Hydrastingehalten mit Verlusten zu rechnen ist. Wir haben daher die oben angegebene Modifikation weiter etwas abgeändert, um eine völlig quantitative Extraktion sicherzustellen. Die neue Variante zeigt folgende zwei Verbesserungen:

Das Hydrastin wird aus der ätherischen Lösung mit 10—10—5—5 ccm Salzsäure (1%) ausgeschüttelt und die Extraktion der ammoniakalisch gemachten wässrigen Lösung ein zweites Mal wiederholt mit 10 ccm Äther und 10 ccm Petroläther.

Nach diesem verbesserten Verfahren wurden Gemische derselben Drogen mit Hydrastin bestimmt.

Tabelle IV.

	A Verwendete Droge g	B Verwendetes Hydrastin g	C Zur Bestimmung gelangen		D Erhaltenes Hydrastin		E Gefundenes Hydrastin (D) — zugeführtes Hydrastin (C) g	F 2,5 g Droge entsprechendes Hydrastin in Prozenten
			Droge g	Hydrastin g	Gewogen g	in Prozenten auf 2,5 g Droge berechnet		
1	3,0	0,0334	2,5	0,0278	0,1004	4,0	0,0726	2,9
2	3,0	0,0379	2,5	0,0317	0,1058	4,2	0,0741	3,0

Die erhaltenen Werte beweisen, daß die zuletzt vorgeschlagene erschöpfendere Extraktion gute Resultate gibt.

De Waal hat in seinem Verfahren eine Extraktion der Droge mit Äther während 1 $\frac{1}{2}$ Stunden angegeben. Da bis dahin allgemein eine halbstündige Extraktion für genügend befunden worden war, haben wir diese Frage nochmals geprüft.

Außerdem haben wir versucht, den nach Ph. H. IV notwendigen späteren Wasserzusatz, um die Droge zu ballen und einen klaren Auszug zu erhalten, durch eine etwas größere Ammoniakmenge zu vermeiden. Ph. H. IV verwendet auf 6 g Droge 5 ccm Ammoniak und setzt nachträglich noch 5 ccm Wasser zu. Wir verwendeten für 3 g Droge 4 ccm Ammoniak ohne nachträglichen Wasserzusatz.

Tabelle V.

	Menge NH ₃ (10 %)	Menge H ₂ O	Extraktionsdauer	Hydrastin	in Prozen- ten
1	2,5 ccm	2,5 ccm	2 Stunden Schüttelmaschine	0,0717 g	2,9
2	4,0 ccm	—	2 Stunden Schüttelmaschine	0,0749 g	3,0
3	2,5 ccm	2,5 ccm	$\frac{1}{2}$ Stunde	0,0729 g	2,9
4	4,0 ccm	—	$\frac{1}{2}$ Stunde	0,0735 g	2,9

Eine halbstündige Mazeration der Droge unter häufigem Schütteln genügt nach diesen und früheren Erfahrungen. Ebenso zeigte der etwas größere Ammoniakzusatz keine nachteiligen Wirkungen. Das Verfahren wird dadurch etwas vereinfacht. Nach Mackie und Cleary¹ soll Hydrastin in Ammoniaküberschuß löslich sein. Sie verlangen zur Freisetzung der Base eine genau bemessene Menge Ammoniak mit möglichst geringem Überschuß. Wir konnten im Laufe der vorliegenden Arbeit nie Hydrastinverluste auf eine Löslichkeit der Base in Ammoniak zurückführen, trotzdem bei den meisten Verfahren mit bedeutendem Ammoniaküberschuß gearbeitet wird. Wir glauben, daß die Bemerkung von Mackie und Cleary, daß ein quantitatives Ausschütteln unter diesen Verhältnissen auch noch vom Verteilungskoeffizienten abhängt, nicht unangebracht ist.

Die geringen Verunreinigungen, die nach unserer Modifikation (völliges Abdestillieren der Äther-Petrolätherlösung) erhalten werden, bestehen zu einem kleinen Teil noch aus Berberin, wie

¹ H. B. Mackie und H. A. Cleary, Pharm. Journ. 115, 145 (1925).

die folgenden Bestimmungen mit Berberin und Gemischen von Berberin und Hydrastin beweisen.

Tabelle VI.

	A	B	C	D	E	F	
	Verwendetes Berberin g	Verwendetes Hydrastin g	Zur Bestimmung gelangen g	Erhaltener Rückstand g	Auf 2,5 g Droge berechnet in Prozenten	Differenz D—C g	in Prozenten
1	ca. 0,06	—	—	0,0039	0,16	—	—
2	ca. 0,08	—	—	0,0035	0,14	—	—
3	ca. 0,06	0,0601	0,0501	0,0522	2,10	0,0021	0,1
4	ca. 0,06	0,0715	0,0596	0,0616	2,50	0,0020	0,1

Die reinigende Wirkung, wie sie dem zur Entwässerung benutzten Traganth nachgerühmt wurde, der noch suspendiertes Berberin mitreißen soll, können wir nicht bestätigen. Wir erhielten bei Versuchen mit Berberin gleiche Werte nach der holländischen Methode (mit Traganth) wie nach unserem nachfolgend beschriebenen Verfahren.

Bestimmungsmethode.

Auf Grund der angestellten Untersuchungen schlagen wir für Arzneibuchzwecke das folgende Verfahren vor, welches im wesentlichen eine Kombination der Methoden der Ph. H. IV und der Ph. Nederl. IV ist:

3,0 g Hydrastispulver werden in einer Arzneiflasche von 125 ccm Inhalt mit

60,0 g Äther geschüttelt, dann

4 ccm Ammoniak (10%) zugesetzt und unter häufigem Schütteln eine halbe Stunde extrahiert. Nach dem Absitzen gießt man

50,0 g der Ätherlösung (= 2,5 g Droge) durch etwas Watte in einen Kolben, gießt in einen Scheidetrichter, spült mit wenig Äther nach und schüttelt die Ätherlösung nacheinander mit

10—10—5—5 ccm Salzsäure (1%) gut aus. Die vereinigten sauren Auszüge werden in einem zweiten Scheidetrichter mit

25 ccm Äther und

- 5 ccm Ammoniak (10 %) versetzt und einige Minuten gut geschüttelt. Dann fügt man noch
 25 ccm Petroläther (Sdp. 30—60°) hinzu, schüttelt rasch kräftig zur Klärung, läßt sofort nach Trennung der Schichten die wässrige Lösung in einen Scheidetrichter ab und die ätherische durch einen Bausch Watte in einen genau tarierten Erlenmeyerkolben. Dieses Ausschütteln mit Äther und Petroläther wiederholt man noch zweimal in analoger Weise mit je
 10 ccm Äther und
 10 ccm Petroläther und läßt jeweils die Auszüge durch die Watte zum ersten in den Kolben fließen. Dann spült man die Watte mit etwas Äther nach und destilliert die Lösung bis auf einen kleinen Rest ab, den man langsam verdunsten läßt. Der Rückstand wird bei 100° getrocknet und gewogen.

Die mit dieser Methode erhaltenen Alkaloidrückstände bestehen aus blaßgelben Kristallen neben geringen Mengen gelbem Firnis, der nicht ohne weiteres nur als Verunreinigung betrachtet werden darf. Nach unseren Erfahrungen kristallisieren die Rückstände aus Äther schlecht, aus einem Äther-Petroläthergemisch nur langsam. Durch rasches und völliges Abdestillieren des Lösungsmittels kann man leicht den gesamten Hydrastinrückstand als gelben Firnis erhalten.

Das vorgeschlagene Verfahren gibt etwas höhere und konstantere Werte als die Methode Rustings, die ganz von der experimentellen Ausführung abhängende Hydrastinverluste aufweist.

Wir haben nach der von uns ausgearbeiteten Methode eine Reihe Bestimmungen ausgeführt, um über die praktische maximale Streuung einige Erfahrung zu sammeln.

Droge A:

in 2,5 g Droge	0,0735 g Hydrastin = 2,94 %	
in 2,5 g Droge	0,0728 g Hydrastin = 2,91 %	
in 2,5 g Droge	0,0716 g Hydrastin = 2,86 %	D = 0,08
in 2,5 g Droge	0,0721 g Hydrastin = 2,88 %	
in 2,5 g Droge	0,0733 g Hydrastin = 2,93 %	
	Mittel: 2,90 %	

Droge B:

in 2,5 g Droge	0,0806 g Hydrastin = 3,22 %	D = 0,08
in 2,5 g Droge	0,0793 g Hydrastin = 3,17 %	
in 2,5 g Droge	0,0785 g Hydrastin = 3,14 %	
	Mittel: 3,18 %	

Droge C:

in 2,5 g Droge	0,0822 g Hydrastin = 3,29 %	D = 0,07
in 2,5 g Droge	0,0834 g Hydrastin = 3,34 %	
in 2,5 g Droge	0,0840 g Hydrastin = 3,36 %	
	Mittel: 3,33 %	

Die vorgeschlagene Modifikation der Methode der Ph. H. IV zeigt folgende Verbesserungen:

1. Es werden nur 3 g Droge verwendet statt 6 g; die Menge des benötigten organischen Lösungsmittels beträgt entsprechend nur 60 g statt 120 g.
2. Durch den jeweiligen Petrolätherzusatz zu den Ätherausschüttelungen wird eine bessere Reinigung des Hydrastins erzielt.

Die Wertbestimmung von Herbstzeitlosensamen.

Von den gegenwärtig in Kraft stehenden Arzneibüchern führen fast alle entweder den Knollen oder die Samen von *Colchicum autumnale* L. als Droge. Es mutet seltsam an, daß bisher nur die U. S. P. VIII und IX¹ eine Gehaltsbestimmung vorschrieben, während tatsächlich schon seit vielen Jahren eine Reihe von Methoden zur Colchicinbestimmung bestehen. In allerneuester Zeit hat das D. A. B. 6² auch eine solche aufgenommen, die stark dem amerikanischen Verfahren gleicht. Es scheint uns wirklich eine Gehaltsbestimmung einer so stark wirkenden Droge, wie sie im Samen *Colchici* vorliegt, endlich am Platze zu sein.

Die *Colchicum*-Samen enthalten durchschnittlich 0,5% Colchicin. Die U. S. P. X verlangt als Minimalgehalt 0,45%, das D. A. B. 6 nur 0,4%. Die in der Literatur³ zu findenden Angaben schwanken sehr, von 0,0456 bis 0,985%, was wohl zum Teil auch auf mangelhafte Bestimmungsmethoden zurückzuführen ist.

Die Schwierigkeiten bei der Colchicinbestimmung bestehen darin, das Colchicin ohne Verlust aus der Droge in einem für eine gravimetrische Bestimmung genügenden Reinheitsgrad zu isolieren. Colchicin ist eine äußerst schwache Base und deshalb nicht titrierbar. Seine Dissoziationskonstante wurde von Kolthoff⁴ zu $4,5 \times 10^{-13}$ bestimmt. Seine Salze sind sehr stark hydrolysiert, weshalb sich Colchicin auch aus saurer wässriger Lösung mit Chloroform ausschütteln läßt. Gleichzeitig erlaubt der etwas labile Charakter des Colchicins kein längeres

¹ U. S. P. VIII und IX = Pharm. of the United States of America VIII, 1905 und IX, 1917; auch die 10. Ausgabe von 1926 besitzt dieselbe Gehaltsbestimmungsmethode wie die 9. Ausgabe, aber in etwas verbesserter Form.

² D. A. B. 6 = Deutsches Arzneibuch, 6. Ausgabe 1927.

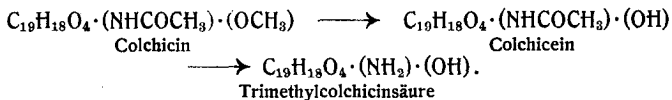
³ Tschirch, Handbuch der Pharmakognosie, III. Bd., 1. Abteilung, p. 136; Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., III. Bd., p. 248.

⁴ I. M. Kolthoff, Der Gebrauch von Farbenindikatoren, 2. Aufl., 1923, 216.

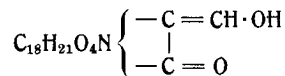
Behandeln mit Säuren und Alkalien, besonders nicht in der Wärme. Die neusten Untersuchungen von Windaus, Schiele, Bredenbeck u. a.¹ haben die Natur und Konstitution des Colchicins endlich etwas abgeklärt. Nach ihnen besitzt es zwei leicht angreifbare Gruppen:

1. Eine acetylierte primäre Aminogruppe.

2. Eine Methyläthergruppe an einer ungesättigten Seitenkette. Bei Verseifung mit Alkalien oder Säuren (NaOH, Ba(OH)₂, HCl, H₂SO₄) tritt Bildung von Trimethylcolchicinsäure ein, wobei speziell die Reaktion bis zum Zwischenprodukt Colchicein leicht verläuft:



Colchicein ist als β -Ketoaldehyd in der Enolform



aufzufassen und gibt deshalb eine olivgrüne Färbung mit Ferrichlorid. Colchicin als Methyläther des Colchiceins gibt im Gegensatz dazu diese Färbung in der Kälte nicht. Beim Erhitzen der angesäuerten Lösung tritt sie langsam auf, da Verseifung zu Colchicein stattfindet.

Auf diese Tatsache ist auch die Bemerkung, daß Colchicein in den Drogenauszügen nachweisbar ist, sicher zum Teil zurückzuführen. Bei sorgfältiger Drogenextraktion läßt sich Colchicein nicht oder nur in sehr geringen Mengen nachweisen, wie wir uns wiederholt überzeugen konnten, und es ist naheliegend, an eine Zersetzung zu denken.

Die Angaben über die Löslichkeit des Colchicins sind zum Teil widersprechend oder sehr verschieden, wobei speziell die älteren Zitate unzuverlässig sind, da sie mit unreinem Colchicin erhalten wurden.

¹ A. Windaus und H. Schiele, Nachr. K. Ges. Wiss. Göttingen 1923, 17; ref. in Chem. Zentralbl. 1923, III, 673; A. Windaus, H. Schiele und W. Bredenbeck, Liebigs Annalen 439, 59 (1924); A. Windaus, H. Jensen und A. Schramme, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 57, 1871 (1924).

Colchicin ist leicht löslich in kaltem Wasser, weniger in heißem Wasser. Es ist sehr leicht löslich in Alkohol und Chloroform, kaum löslich in kaltem Benzol und fast gar nicht in absolutem Äther und in Petroläther¹.

Nach Merck² soll es aber in Benzol beträchtlich löslich sein, was wir bestätigen können.

Müller³ ermittelte folgende Löslichkeiten des Colchicins:

Äther (spezifisches Gewicht 0,720)	1 : 796,2
Wassergesättigter Äther	1 : 554,2
Äthergesättigtes Wasser	1 : 8,3
Wasser	1 : 10,4
Benzol (spezifisches Gewicht 0,885)	1 : 106,5
Essigäther (spezifisches Gewicht 0,900)	1 : 74,5
Petroläther (59—64° Siedepunkt)	1 : 1737,1
Tetrachlorkohlenstoff (spezifisches Gewicht 1,599)	1 : 829,6
Chloroform (spezifisches Gewicht 1,487)	unter 1 : 1.

U. S. P. X gibt folgende Löslichkeiten an:

1 g Colchicin ist löslich in	22 ccm Wasser	} bei 25°.
	220 ccm Äther	
	100 ccm Benzol	

Über die älteren Bestimmungsmethoden hat Bredemann⁴ im Jahre 1903 in einer ausführlichen Arbeit referiert. Die neueren Vorschläge versuchen die Reinigung auf verschiedene Weise.

Panchaud⁵ benutzt ein neues Prinzip, indem er das Colchicin aus der durch Fett, Farbstoff usw. verunreinigten, stark konzentrierten Chloroformlösung durch Zusatz von viel Petroläther wiederholt ausfällt. Die Methode lautet in der von Fromme⁶ angegebenen Fassung:

15 g grobgepulverte Samen werden in einer Arzneiflasche von 200 ccm Inhalt mit 75 g Äther und 75 g Chloroform versetzt, eine halbe Stunde häufig geschüttelt, mit 6 g Ammoniak (10 %) versetzt, drei Stunden unter

¹ Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, 3. Aufl., III. Bd., p. 873.

² Merck, Nicht offizielle Alkaloide, p. 113 und 115 (Mercks Wissenschaftliche Abhandlungen No. 22).

³ W. Müller, Apoth.-Ztg. **18**, 249 (1903).

⁴ Bredemann, Apoth.-Ztg. **18**, 817 (1903).

⁵ A. Panchaud, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Ph. **41**, 572 (1903); **44**, 563 (1906).

⁶ G. Fromme, Jahresbericht von Caesar & Loretz 1924, 289.

häufigem Schütteln stehen gelassen. Es werden dann 100 g in einen Erlenmeyerkolben von 200 ccm Inhalt abfiltriert, abdestilliert, der Rückstand mit 1 g trockenem Chloroform aufgenommen, mit 2 g trockenem Äther gemischt, 30 g trockener Petroläther (Sdp. 50–60°) zugesetzt. Dann filtriert man durch ein glattes Filter von 8 cm Durchmesser, spült Kolben und Filter mit wenig Petroläther nach und setzt Trichter mit Filter auf den leeren Kolben. Der noch feuchte Niederschlag wird mit heißem Chloroform in den Kolben gelöst und abgedunstet. Der Rückstand (Colchicin) wird in 15 Tropfen trockenem Chloroform gelöst, mit 2 g trockenem Äther gemischt, mit 30 g trockenem Petroläther versetzt, durch ein glattes tariertes Filter von 8 cm Durchmesser filtriert. Am Glas haftende Reste von Colchicin werden in 5 Tropfen Chloroform gelöst, mit 1 g trockenem Äther, dann mit 10 g Petroläther unter Schwenken gemischt, aufs Filter gebracht, Kolben und Filter einmal mit wenig Petroläther nachgewaschen, darauf Filter und Niederschlag zur Konstanz getrocknet und gewogen. Der gefundenen Menge werden für durch die Lösungsmittel verlorenes Colchicin 0,0022 g zugezählt. Die erhaltene Menge gibt mit 10 multipliziert den Gehalt in Prozenten.

An die alten und umständlichen Methoden zur Isolierung von Alkaloiden erinnern die Verfahren von Farr und Wright¹ und von Davies², die das Colchicin durch Überführen in eine unlösliche Verbindung mit allgemeinen Alkaloidreagentien, sei es mit Jodlösung oder Phosphorwolframsäure, von den Verunreinigungen trennen. Die Komplexverbindungen, die sich infolge sehr variabler Zusammensetzung³ zur direkten gravimetrischen Bestimmung nicht eignen, werden wieder zerlegt und das Colchicin mit Chloroform entzogen.

Im Anschluß daran sei noch kurz der von Gordin⁴ ausgearbeiteten und nach Ferreira⁵ für das Colchicin ebenfalls anwendbaren indirekten Titration gedacht. Sie beruht auf dem Prinzip, das Colchicin aus seiner Lösung in überschüssiger, genau

¹ E. H. Farr und R. Wright, Pharm. Journ. **85**, 578 (1910).

² E. C. Davies, Pharm. Journ. **106**, 480 (1921).

³ Die inkonstante Zusammensetzung der Komplexverbindungen zeigen die verschiedenen Angaben. Jensen (Pharm. Journ. **90**, 658 [1913]) fand für das Silicowolframat folgende Werte:

Colchicin kristallinisch $\text{SiO}_2 \cdot 12 \text{WO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 5 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$.

Colchicin amorph $\text{SiO}_2 \cdot 12 \text{WO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 6 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$.

North und Beal (Journ. Am. Ph. Ass. **13**, 889 [1924]) dagegen geben an:

$\text{SiO}_2 \cdot 12 \text{WO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 4 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$.

⁴ Gordin, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **32**, 2871 (1899).

⁵ H. M. Ferreira, Arch. de med. leg. **1**, 325 (1922), ref. in Chem. Zentralbl. 1925, II, 1773.

bekannter Salzsäure mit Wagners oder Mayers Reagens zu entfernen, wobei eine äquivalente Menge Säure mit ausgefällt wird, und den Säureüberschuß zurückzutitrieren.

Die Hauptverunreinigung des Colchicins, das fette Öl der Samen, sucht die Methode der U. S. P. X zu umgehen, indem sie die Droge mit heißem Wasser extrahieren läßt. Gleichzeitig versucht das Verfahren, durch Bleiessig die färbenden Substanzen zu entfernen. Die Bestimmungsmethode des D. A. B. 6 arbeitet im Grunde genommen ganz gleich und sei als modernster Vertreter dieses Prinzipes hier wiedergegeben:

20 g mittelfein gepulverter Zeitlosensamen werden in einem Arzneiglas von 300 ccm Inhalt mit 200 ccm Wasser übergossen und eine Stunde lang bei 50—60° im Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten und Absetzen fügt man zu 140 g der in ein Arzneiglas von 300 ccm Inhalt abgegossenen wässrigen Flüssigkeit (= 14 g Zeitlosensamen) 14 g Bleiessig hinzu, schüttelt die Mischung 3 Minuten lang kräftig durch und filtriert sie durch ein trockenes Faltenfilter von 12 cm Durchmesser in ein Arzneiglas von 200 ccm Inhalt. Zu dem Filtrate gibt man 4 g zerriebenes Natriumphosphat, schüttelt 3 Minuten lang kräftig durch und filtriert die Lösung durch ein trockenes Faltenfilter von 12 cm Durchmesser. 110 g des Filtrates (= 10 g Zeitlosensamen) versetzt man in einem Scheidetrichter mit 30 g Natriumchlorid, gibt nach dessen Lösung 50 g Chloroform hinzu und schüttelt die Mischung 5 Minuten lang kräftig durch. Nach vollständiger Klärung filtriert man die Chloroformlösung durch ein kleines, glattes, doppeltes Filter. 40 g dieser Lösung (= 8 g Zeitlosensamen) läßt man in einem gewogenen Kölbchen verdunsten und trocknet den Rückstand bei 70—80° bis zum gleichbleibenden Gewichte. Die Menge des Rückstandes muß mindestens 0,032 g betragen, was einem Mindestgehalte von 0,4 % Kolchizin entspricht.

Einen anderen Weg geht Casparis¹. Er sucht durch abwechselndes Ausschütteln mit Chloroform und verdünnter Salzsäure das Colchicin zu reinigen. Sein vorläufiger Entwurf für eine Colchicinbestimmung lautet:

15 g Samen Colchici plv. gross. werden mit je 75 g Äther und Chloroform übergossen, gut durchgeschüttelt und hierauf 5 ccm verdünnte Essigsäure (20—30 %) zugesetzt. Nach zweistündigem häufigem Schütteln werden 100 g abfiltriert in einen Kolben, in einen Scheidetrichter gegeben und der Kolben mit 50 g Äther nachgewaschen. Diese Lösung wird 5—6 mal mit 1%iger Salzsäure ausgeschüttelt, die vereinigten HCl-Lösungen im Scheidetrichter nach Zugabe von einigen Tropfen Methylorange mit Am-

¹ Privatmitteilung von Herrn Prof. Dr. P. Casparis, Basel. Wir benutzen diese Gelegenheit, Herrn Prof. Dr. Casparis auch an dieser Stelle für die gültige Mitteilung seiner Erfahrungen auf diesem Gebiete zu danken.

moniak versetzt bis zur deutlichen alkalischen Reaktion und dann 3—4 mal mit Chloroform (20—30 ccm) ausgeschüttelt. Die Chloroformlösungen werden jeweils durch ein kleines glattes Filter filtriert, dieses etwas nachgewaschen und die Lösung auf ca. 10 ccm eingedampft. Dann filtriert man in ein tariertes Kölbchen von 50 ccm Inhalt, wäscht gut nach mit Chloroform, dampft ab und trocknet bei 110°. Letzteres dauert mehrere Stunden, da das Chloroform sehr schwer wegzubringen ist. Eventuell ist es vorteilhaft, den Rückstand mehrmals mit Äther zu übergießen und wieder abzudampfen.

Zur Ergänzung der verschiedenen zitierten Methoden geben wir noch die von Bredemann¹ auf Grund seiner vergleichenden Versuche verbesserte Bestimmung nach Katz-Linde²:

10 g Samenpulver werden im Soxhlet zwei Stunden mit 90%igem Alkohol extrahiert. Der Auszug wird auf 20 ccm eingengt, 0,5 g festes Paraffin und 20 g Wasser zugefügt und bis zum Schmelzen des Paraffins und bis zur völligen Verjagung des Alkohols weiter erwärmt, so daß 10—15 ccm zurückbleiben. Nach dem völligen Erkalten wird die Flüssigkeit von dem auf ihr schwimmenden festen Kuchen, bestehend aus Paraffin und fettem Öle, durch ein angefeuchtetes Filter abfiltriert. Der Paraffinkuchen wird auf dem Wasserbade mit 10 g Wasser und 1 g Essigsäure bis zum Schmelzen erwärmt, die Flüssigkeit nach dem Erkalten durch dasselbe Filter filtriert und letzteres samt Schale und Paraffinkuchen gut nachgewaschen. Die vereinigten blanken Filtrate werden im Schütteltrichter mit soviel NaCl versetzt, daß eine gesättigte Lösung entsteht, evtl. noch eine Spur NaCl ungelöst bleibt. Darauf wird zuerst mit 20 ccm und dann mit je 10 ccm Chloroform ausgeschüttelt und die Ausschüttelung solange wiederholt, bis einige Tropfen der wässrigen Colchicinlösung, vorsichtig an der Seite eines Reagensglases zu einer 1/20 Normal-Jodjodkaliumlösung fließen gelassen, an der Berührungsstelle nur noch höchstens eine minimale Trübung hervorrufen. Die Chloroformauszüge werden durch ein kleines, mit Chloroform getränktes Filter in ein Becherglas filtriert, das Chloroform verdunstet, der Rückstand zur Zerlegung der Chloroformverbindung des Colchicins mit wenig Wasser gelöst, wenn nötig, filtriert, das Wasser verdunstet und der Rückstand über Schwefelsäure bis zum gleichbleibenden Gewicht getrocknet und gewogen.

Alle Verfahren weisen eine Reihe von Fehlerquellen und Inkonsequenzen auf. Wir haben nach den vier ausführlich zitierten Methoden Bestimmungen durchgeführt und fassen im folgenden unsere dabei gemachten Beobachtungen und Ansichten summarisch zusammen.

1. Das Verfahren von Panchaud ist umständlich und bedarf einer Korrektur, die ein peinlich genaues Arbeiten nach der

¹ Bredemann, Apoth.-Ztg. **18**, 817 (1903).

² Katz, Pharm. Zentralh. **42**, 287 (1901).

Originalvorschrift voraussetzt. Es gelangt ein feines, hellgelbes Pulver zur Bestimmung, das aber aus wenig Chloroform als dunkelbrauner Firnis zurückbleibt. Man darf nicht den Trugschluß ziehen, das gefällte helle Pulver stelle ein Colchicin von höherem Reinheitsgrade dar als die nach anderen Methoden resultierenden Firnisse. Es handelt sich hier lediglich um einen durch Fällen erzielten andern Verteilungsgrad, wie er z. B. in der Harzchemie viele Analogien findet. Das Panchaudsche Verfahren läßt sich heute noch etwas eleganter gestalten, indem statt tariertes Papierfilter Glasfiltriertiegel verwendet werden. Im Verlaufe unserer Bestimmungen gelang es uns häufig nicht, das nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Extrakt in der vorgeschriebenen Menge von 1 g trockenem Chloroform zu lösen, und Zugabe von 2 g trockenem Äther verursachte bereits eine starke Fällung.

2. Das Verfahren des D. A. B. 6 ist sehr umständlich, zeitraubend und unrationell, da von 20 g Ausgangsmaterial nur 8 g zur Bestimmung kommen. Außerdem ist das Verfahren theoretisch nicht einwandfrei, da wiederholt aliquote Gewichtsmengen abfiltriert werden, was bei den verschiedenen Fällungsreaktionen nicht angängig ist, da sich die Gewichtsverhältnisse des ganzen Systemes ändern. Die Annahme, daß die dadurch eintretenden Ungenauigkeiten sich zum Teil gegenseitig aufheben und sich mit der von der Praxis geforderten Genauigkeit vertragen¹, ist ein Kompromiß. Unseres Erachtens bestehen bei Drogenbestimmungen noch genügend Fehlermöglichkeiten, die auszuschalten wir gegenwärtig noch nicht imstande sind. Die erwähnte Ungenauigkeit wird übrigens schon lange von der U. S. P. zum Teil vermieden, indem sie mit Volumeneinheiten arbeiten läßt. Wir glauben, daß bei gleichzeitiger Verwendung von wasserfreiem Natriumphosphat der Fehler ganz behoben werden könnte. Ferner erscheint es uns im vorliegenden Falle rationeller, das Colchicin in seiner Gesamtmenge der Kochsalzlösung mit Chloroform zu entziehen, was durch 2—3maliges Ausschütteln möglich ist. Das Verfahren wird dadurch nicht viel umständlicher und die an sich schon stark herabgesetzte Drogenmenge nicht unnötiger-

¹ Arch. Pharm. 264, 552 (1926).

weise noch mehr erniedrigt. Zur Bestimmung gelangt eine Chloroform-Colchicinverbindung, die bei 100° nur langsam das Chloroform abgibt. D. A. B. 6 läßt aber bei 70—80° trocknen, bestimmt also ein Chloroform-Colchicin¹. U. S. P. X läßt das Colchicin wiederholt mit Alkohol abdampfen, um das Chloroform vollständig zu vertreiben.

3. Das alte Verfahren von Katz-Linde in der letzten Modifikation von Bredemann ist ebenfalls umständlich. Ein Arbeiten mit einem Soxhlet-Apparat läßt sich wohl erübrigen, nachdem viele Versuche die relativ leichte Extrahierbarkeit des Colchicins aus der Droge erwiesen haben. Die Trennung des Fettes nach dem Paraffinverfahren gelang uns nicht ganz, da immer Spuren von Fett im wässrigen Auszug waren. Ob das Fett Colchicin zurückhält, wie Panchaud² angibt, lassen wir dahingestellt.

4. Bedeutend einfacher ist das Verfahren von Casparis. Es wird nur durch das häufige Ausschütteln etwas langwierig. Als Mangel haben wir empfunden, daß die Ausschüttelungsmengen sehr groß werden. Nach unseren Erfahrungen genügt 5—6maliges Ausschütteln mit 1%iger Salzsäure nicht; wir haben bis 9mal ausgeschüttelt und noch schwach positive Alkaloidreaktion erhalten. Es erklärt sich dies dadurch, daß Colchicin als sehr schwache Base stark hydrolysierte Salze bildet. Auch mit einer Verseifung des Alkaloides ist zu rechnen, wie schon Puckner³ erwähnte.

Trotzdem hat die Ausschüttelungsmethode, die bei stärker basischen Alkaloiden seit langem mit so großem Erfolg angewandt wird, etwas Bestechendes an sich, und wir haben versucht, diese Methode auch bei Samen Colchici praktikabel zu gestalten.

Dabei dienten uns folgende Überlegungen als Richtlinien:

1. Als Grundlage der ganzen Methode ist die Beständigkeit des Colchicins gegenüber Säure verschiedener Konzentration zu untersuchen.

¹ Vgl. Merck, Nicht offizinelle Alkaloide, p. 474 (Mercks Wissenschaftliche Abhandlungen No. 22).

² A. Panchaud, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Ph. **41**, 572 (1903).

³ W. A. Puckner, Digest of Comments on the Pharmacopoeia of the United States of America 1906, 245.

2. Die quantitative Ausschüttelung des Colchicins mit Säure ist zu verbessern unter folgenden Gesichtspunkten:
 - a) Die Löslichkeit des Alkaloides im organischen Lösungsmittel (Chloroform) soll möglichst herabgesetzt werden durch Einengung des Volumens und Verdünnen mit einer spezifisch leichten Flüssigkeit (Äther oder Petroläther), in der Colchicin schwer löslich ist.
 - b) Die Hydrolyse des Alkaloidsalzes sollte möglichst zurückgedrängt werden dadurch, daß zum Ausschütteln der schwachen Base eine viel konzentriertere Säure verwendet wird.
3. Bei der Extraktion des Colchicins aus der salzsauren Lösung mittels Chloroform sind folgende Momente zu beachten:
 - a) Zweckmäßiges Alkalisieren der stark sauren Lösung unter Vermeidung von Temperatursteigerung und Verseifung des Colchicins.
 - b) Aussalzen des Alkaloides, was mit dem Alkalisieren parallel gehen kann, wenn mit konzentrierten Alkalien gearbeitet wird.
4. Das durch Abdampfen der Lösung erhaltene Chloroform-Colchicin ist in Colchicin überzuführen, damit ein leicht zu trocknendes Produkt von konstanter Zusammensetzung erhalten wird, das einen Vergleich der Werte erlaubt.

Den Zusammenhang zwischen Verseifungsgeschwindigkeit des Colchicins und Säurekonzentration haben wir verfolgt, indem wir 0,5%ige Colchicinlösungen in Salzsäure verschiedener Konzentration herstellten und in bestimmten Zeitintervallen an einer herausgenommenen Probe mit der Ferrichloridreaktion auf die Gegenwart von Colchicein prüften. Zu diesem Zwecke wurden jeweils 10 Tropfen der Lösung mit 1 Tropfen Ferrichloridlösung versetzt. Bei Eintritt einer deutlichen Grünfärbung wurde die Versuchsreihe abgebrochen. Als Kontrolle diente 1 Tropfen einer 0,5 promilligen Colchiceinlösung in 10%iger Salzsäure. Diese Probe gab noch eine intensive Grünfärbung, so daß unsere Angabe „deutliche Grünfärbung“ auf eine Zersetzung von höchstens 10% des vorhandenen Colchicins hinweist.

Konzentration der Säure in Gewichtsprozenten :	Zeit, nach der eine deutliche Grün- färbung wahrgenommen wurde:
25 %	24 Stunden
18 %	3 Stunden
10 %	1,5 Stunden
1 %	1 Stunde

Es ergibt sich klar aus dieser Versuchsserie, daß die Verseifung zu Colchicein um so langsamer verläuft, je konzentrierter die Salzsäure ist.

Zur Verdünnung des stark konzentrierten Chloroformauszuges wurden zuerst Äther und Petroläther ins Auge gefaßt. Beide Stoffe lösen Colchicin sehr schwer und sind spezifisch leichter als Chloroform und Salzsäure; zwei große Vorteile. Von der Verwendung von Äther muß aber wegen seiner großen Löslichkeit in starker Salzsäure abgesehen werden.

Zur Neutralisation und Alkalisierung kommen Natronlauge, Ammoniak und Natriumkarbonat in Frage. Um das Volumen der salzsauren Lösung nicht unnötig zu vergrößern sind konzentrierte Lösungen zu verwenden. Bei der Neutralisation mit Natronlauge oder Ammoniak entsteht aber eine starke Temperaturerhöhung, die auch durch Kühlung mit Eis schwer ganz zu vermeiden ist. Praktischer ist die Verwendung von festem, getrocknetem Natriumkarbonat, wobei die eintretende geringe Temperaturerhöhung durch Wasserkühlung vermieden werden kann. Mit diesem Alkalisieren ist gleichzeitig ein Aussalzen verbunden, weil beträchtliche Mengen Natriumchlorid entstehen.

Gestützt auf diese Tatsachen haben wir Bestimmungen mit reinem Colchicin¹ ausgeführt, wobei wir die Methode von Casparis in folgender Weise modifizierten:

Ca. 0,05 g Colchicin (genau gewogen) werden mit 10 ccm Chloroform in einen kleinen Scheidetrichter mit kurzem Halse gespült. Man verdünnt mit 15 ccm Petroläther und schüttelt nacheinander mit 10—5—5—5 ccm Salzsäure (ca. 5 N) aus. Einige Tropfen der letzten Ausschüttelung sollen mit Jodjodkali oder Kalium-

¹ Wir verwendeten Colchicinum purissimum, amorph von Merck, das einen Feuchtigkeitsgehalt von durchschnittlich 3,1 % aufwies. Für die Analysen wurde das wasserfreie Produkt benutzt.

wismutjodid keine positive Reaktion mehr geben. Man filtriert die salzsauren Ausschüttelungen durch ein kleines nasses Filter in einen größeren Scheidetrichter gleicher Konstruktion und alkalisiert unter Wasserkühlung, indem man in kleinen Portionen trockenes Natriumkarbonat einträgt. Dann schüttelt man dreimal mit je

15 ccm Chloroform aus. Einige Tropfen der letzten Ausschüttelung sollen frei von Alkaloid sein. Die Chloroformlösungen werden durch ein trockenes Filter in ein Kölbchen filtriert, mit Chloroform nachgewaschen und mit etwas geschmolzenem Chlorcalcium getrocknet. Man filtriert vom Chlorcalcium in ein trockenes Kölbchen ab, spült mit Chloroform nach, destilliert auf einen geringen Rückstand ab, spült mit Chloroform in ein weites, genau gewogenes Wägegölchen und dampft auf dem Wasserbad ab. Den Rückstand nimmt man noch zweimal in wenig Weingeist auf und verdunstet jeweils ganz. Dann trocknet man bei 105° bis zur Konstanz und wägt.

Die Versuche mit dieser Methode sind sehr befriedigend ausgefallen, wie die folgende Zusammenstellung zeigt.

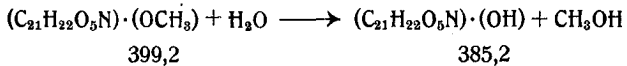
	I	II	III
	Verwendetes Colchicin in Gramm	Erhaltenes Colchicin in Gramm	II in Prozenten von I
1	0,0463	0,0457	98,7
2	0,0492	0,0494	100,4
3	0,0503	0,0501	99,6
4	0,0532	0,0533	100,2
5	0,0644	0,0642	99,7
6	0,0677	0,0675	99,7
7	0,0690	0,0692	100,3
8	0,0803	0,0802	99,9
9	0,0874	0,0868	99,3

Mittelwert: 99,76 %.

Bei der Beurteilung dieser Werte ist zu berücksichtigen, daß vier Wägungen auf eine Analyse fallen. Wenn der Wägefehler zu 0,0002 g angenommen wird, kann im ungünstigsten Falle der maximale Fehler bereits eine Differenz von 0,0008 g verursachen,

was bei den durchschnittlich kleinen Mengen von Ausgangsmaterial schon beträchtliche Streuungen im Prozentgehalt bedingt. Dabei sind andere Fehler, wie sie während der ganzen Analyse sich einschleichen können, noch gar nicht mitgerechnet. Die erhaltenen Rückstände sind firnisartig, braun gefärbt, und zeigen eine geringe Zersetzung zu Colchicein, was mit der Ferrichloridreaktion konstatiert wurde¹. Wir haben die Zersetzungsmöglichkeiten im Verlaufe des ganzen Bestimmungsganges verfolgt und gefunden, daß erst in den allerletzten Phasen Colchicein nachweisbar wird. Der Einfluß dieser geringen Verseifung auf das Endresultat ist übrigens von ziemlich untergeordneter Bedeutung, wie eine kurze Überlegung zeigt.

Die Verseifung verläuft nach der Gleichung:



Bei einer völligen Zersetzung tritt ein Gewichtsverlust von 3,5% ein.

Bei Annahme einer Verseifung zu 10% ist also der Fehler nur noch 0,35%, was z. B. bei 0,0500 g Colchicin einen Verlust von 0,00017 g bedeutet.

Bei Übertragung der oben skizzierten Methode auf die Drogenbestimmung zeigten sich Schwierigkeiten. Die Chloroformauszüge der Droge wurden stark eingeengt, filtriert, abdestilliert und der Rückstand mit 15 ccm Chloroform in einen Scheidetrichter gespült. Die Lösung wurde mit 25 ccm Petroläther verdünnt und mit 10—5—5—5 ccm Salzsäure (ca. 5 N) ausgeschüttelt. Dabei bildeten sich Emulsionen, die sich nicht oder nur langsam trennen ließen. Die Annahme, daß Fettstoffe hierbei eine Rolle spielen, erwies sich als irrig, da auch mit Petroläther entfettete Droge zum selben Mißerfolge führte. Viele Versuche mit anderen Lösungsmitteln an Stelle von Chloroform-Petroläther schlugen fehl. Ebenso führten andere Kunstgriffe, wie Filtrationen usw. nicht zum Ziele, so daß wir uns schließlich nach vielen Mißerfolgen genötigt sahen, die Anwendung der bei reinem Colchicin gut bewährten Methode auf die Droge zurückzustellen.

¹ Ähnliche Zersetzungen wurden auch bei Rückständen konstatiert, die nach anderen Methoden erhalten wurden.

Wir haben darauf die sogenannte „Bleiessigmethode“, die als einziges der neueren Verfahren sich Eingang in zwei Arzneibücher zu verschaffen mußte, einer näheren Kritik unterzogen.

Dabei ließen wir uns von folgenden Gesichtspunkten leiten:

1. Die wässrige Extraktion ist durch einfaches Schütteln in der Kälte zu versuchen, was als eine Vereinfachung zu betrachten ist, sofern die Extraktionsdauer nicht zu groß wird. Eine kalte Extraktion ist auch durch die größere Löslichkeit des Colchicins in kaltem Wasser wohl begründet.
2. Das unrationelle, wiederholte Abfiltrieren aliquoter Teile ist zu vermeiden und eine einfache, raschere Arbeitsweise zu suchen.
3. Das Verfahren wird zweckmäßiger auf der Basis von Volumeneinheiten durchgeführt, damit sich die verschiedenen Gewichtsänderungen nicht allzu störend bemerkbar machen.
4. Bei der guten Ausschüttelbarkeit des Colchicins aus Kochsalzlösung mit Chloroform ist ein weiteres Abgießen eines aliquoten Teiles zu vermeiden. Mit einem verhältnismäßig geringen Mehr an Zeitaufwand läßt sich hier eine weitere Verminderung der zur Bestimmung gelangenden Drogenmenge verhüten.
5. Das erhaltene Colchicin soll auf seine Reinheit geprüft werden. Nötigenfalls ist eine weitere Reinigung zu versuchen.
6. Es ist zu vermeiden, daß eine Chloroformverbindung des Colchicins zur Wägung gelangt, da mehrere solche Verbindungen mit verschiedenem Chloroformgehalt bekannt sind.
7. Die ganze Methode ist durch Wahl anderer Mengenverhältnisse rationeller zu gestalten.

Zur Prüfung dieser Punkte führten wir eine Reihe von Versuchen aus, indem wir folgende Daten variierten:

1. Extraktionsdauer in Stunden = T.
2. Extraktionstemperatur in Graden = t.
3. Menge Wasser, die zur Extraktion verwendet wurde, in Kubikzentimetern = W.
4. Zugefügte Menge Bleiessig in Kubikzentimetern = B.
5. Zugefügte Menge wasserfreies Natriumphosphat in Grammen = P.

Die Bestimmungen wurden alle mit derselben Droge von mittlerem Colchicingehalt nach folgendem allgemeinem Verfahren ausgeführt:

12,00 g Semen Colchici plv. werden in einer Arzneiflasche mit W ccm Wasser übergossen und bei t° während T Stunden unter häufigem Schütteln extrahiert. Dann fügt man B ccm Bleiessig hinzu, schüttelt kräftig, läßt absitzen und filtriert durch ein Faltenfilter in eine trockene Arzneiflasche. Das Filtrat versetzt man mit P g wasserfreiem, sekundärem Natriumphosphat, schüttelt einige Minuten und filtriert dann klar ab vom gebildeten Bleiphosphat. x ccm des Filtrates werden in einem Scheidetrichter mit NaCl gesättigt und wiederholt mit je 30 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Die filtrierten, gesammelten Chloroformausschüttelungen werden über geschmolzenem Calciumchlorid getrocknet, durch ein trockenes Filter gegossen und aus einem gewogenen Erlenmeyerkölbchen abdestilliert. Den Rückstand dampft man zweimal mit einigen Kubikzentimetern Weingeist ab, trocknet bei 103° bis zur Gewichtskonstanz und wägt (a).

Dann erwärmt man den Rückstand mit 10 ccm 1%iger Salzsäure 15 Minuten auf dem Wasserbad, filtriert nach dem Erkalten durch etwas gereinigte Baumwolle, spült Kölbchen und Filter mit Wasser gut nach, preßt die Baumwolle gut aus, setzt den Trichter auf das Kölbchen und spült mit Alkohol und Äther zurück. Man dampft auf dem Wasserbad ab, trocknet bei 103° zur Gewichtskonstanz und wägt (b).

Die Differenz der Wägungen (a—b) ergibt das Gewicht Colchicin in $\frac{12,00 \cdot x}{W + B}$ g Semen Colchici und der Prozentgehalt berechnet sich nach der Formel:

$$\frac{(a - b) \cdot 100 \cdot (W + B)}{12,00 \cdot x}$$

Die folgende Tabelle stellt die verschiedenen Versuche, die wir mit der beschriebenen Modifikation der Bleiessigmethode unter Variierung der Werte W, t, T, B und P ausführten, übersichtlich zusammen.

No.	W	t	T	B	P	x		a	b	a—b	Colchicin
	ccm	Grad C	Std.	ccm	g	ccm	Droge g	g	g	g	%
1	225	18	6	15	3,0	175	8,75	0,0471	0,0026	0,0445	0,509
2	225	18	2	15	3,0	175	8,75	0,0479	0,0035	0,0444	0,507
3	225	50—60	2	15	3,0	175	8,75	0,0478	0,0033	0,0445	0,509
4	165	50—60	2	15	3,0	120	8,00	0,0424	0,0024	0,0400	0,500
5	165	50—60	1	15	3,0	120	8,00	0,0422	0,0021	0,0401	0,501
6	165	50—60	1	15	3,0	120	8,00	0,0439	0,0037	0,0402	0,503
7	165	18	2	15	3,0	120	8,00	0,0435	0,0033	0,0402	0,503
8	165	18	2	15	2,0	120	8,00	0,0430	0,0029	0,0401	0,501
9	170	50—60	1	10	1,5	120	8,00	0,0438	0,0030	0,0408	0,510
10	170	18	2	10	1,5	120	8,00	0,0437	0,0031	0,0406	0,507
11	170	18	2	10	1,5	120	8,00	0,0436	0,0034	0,0402	0,503
12	170	18	2	10	1,5	120	8,00	0,0429	0,0028	0,0401	0,501

Zu obigem Verfahren seien noch einige Bemerkungen gemacht.

Wir erachten es nicht für zweckmäßig, den Bleiessig schon vor der Extraktion zuzusetzen, wie es im Verfahren der U. S. P. X vorgeschrieben wird. Es können dadurch auf der Oberfläche der Drogenpartikelchen Fällungen entstehen, die eine nachfolgende Extraktion erschweren. Indem man aber nach beendigter Extraktion Bleiessig zusetzt und dann filtriert, kann man diese ganze Stufe der Methode vereinfachen.

Die stete und unrationelle Verminderung der zur Bestimmung gelangenden Drogenmenge durch das fortwährende Abfiltrieren von aliquoten Flüssigkeitsmengen läßt sich sehr gut vermeiden. Wir lassen nur einmal, und zwar erst nach völliger Reinigung des Wasserauszeuges eine genau bekannte Menge nehmen, wodurch wir die Möglichkeit schaffen, die Alkaloidmenge von zwei Dritteln der verwendeten Droge zur Wägung zu bringen, während das D. A. B. 6 nur zwei Fünftel und die U. S. P. X sogar nur ein Drittel der benutzten Drogenmenge zur Bestimmung bringt.

Das Chloroform der Colchicin-Chloroformverbindung wird durch wiederholtes Abdampfen des Rückstandes mit Weingeist vor der Wägung vertrieben.

Die Reinigung nach dem Bleiessigverfahren ist keine vollständige. Das erhaltene Rohcolchicin enthält stets noch geringe Mengen Verunreinigungen, die ähnliche Löslichkeitsverhältnisse wie das Colchicin aufweisen. Mit organischen Lösungsmitteln

(Petroläther usw.) ist keine weitere Reinigung möglich, wie wir uns durch wiederholte Versuche überzeugen konnten.

Hingegen erschien uns das von der U.S.P. X angewandte Prinzip, eine letzte Reinigung durch eine Säurebehandlung des Rückstandes vorzunehmen, sehr vorteilhaft. Aus dem gewogenen Rohcolchicin wird durch kleine Mengen verdünnter Säure das Alkaloid herausgelöst; die Menge der säureunlöslichen Verunreinigungen wird gewogen und vom Rohcolchicin abgezogen.

Bestimmungsmethode.

Auf Grund der erhaltenen Werte schlagen wir die folgende Methode zur Colchicinbestimmung vor:

- 12,00 g Herbstzeitlosensamenpulver werden in einer Arzneiflasche von 250 ccm Inhalt mit
- 170 ccm Wasser übergossen und zwei Stunden unter häufigem Schütteln extrahiert. Dann fügt man
- 10 ccm Bleiessig hinzu, schüttelt kräftig und läßt absitzen. Man filtriert durch ein Faltenfilter in eine trockene Arzneiflasche von 200 ccm Inhalt völlig ab, versetzt das Filtrat mit
- 1,5 g entwässertem sekundärem Natriumphosphat, schüttelt einige Minuten kräftig, läßt absitzen und filtriert klar ab. In
- 120 ccm des Filtrates (= 8,0 g Droge) werden in einem Scheidetrichter
- 30 g Natriumchlorid gelöst und dreimal mit je
- 30 ccm Chloroform gut ausgeschüttelt. Die filtrierten vereinigten Chloroformauszüge werden über geschmolzenem Calciumchlorid getrocknet, durch ein trockenes Filter in einen gewogenen Erlenmeyerkolben filtriert, mit Chloroform nachgespült und das Lösungsmittel abdestilliert. Den Rückstand dampft man zweimal mit wenig Weingeist auf dem Wasserbad ab, trocknet bei 103° bis zur Gewichtskonstanz und wägt (a).

Den gewogenen Rückstand erwärmt man mit

- 10 ccm 1% iger Salzsäure 15 Minuten auf dem Wasserbad, filtriert nach dem Erkalten durch etwas Watte, spült Kolben und Trichter mit Wasser gut nach, preßt die Baumwolle gut aus, setzt den Trichter auf das Kölbchen zurück und wäscht ihn mit wenig Alkohol und Äther

aus. Man dampft auf dem Wasserbad ab, trocknet bei 103° zur Gewichtskonstanz und wägt (b). Die Differenz der Wägungen (a—b) ergibt die Menge an Colchicin aus 8,0 g Droge. Der Prozentgehalt an Colchicin berechnet sich nach der Formel:

$$\frac{(a-b) \cdot 100}{8,0}$$

Wir haben mit derselben Droge (Droge A) zur Kontrolle auch Bestimmungen nach anderen Verfahren ausgeführt und ähnliche Werte erhalten, die infolge von Verunreinigungen meist etwas höher ausfallen, wie eine kurze Zusammenstellung zeigt:

Methode Keller-Panchaud	0,51 %
Methode Katz-Linde-Bredemann	0,55 %
Methode Casparis ¹	0,54 %
Methode des D. A. B. 6 ²	0,51 %
Methode der U. S. P. X.	0,50 %.

Mit unserer modifizierten Methode haben wir drei im Gehalt sehr verschiedene Drogen bestimmt.

Droge A (neueres Muster aus dem Handel):

0,50 %	
0,51 %	Mittel: 0,503 %
0,50 %	

Droge B (neueres Muster aus dem Handel):

0,79 %	
0,81 %	Mittel: 0,793 %
0,78 %	

Droge C (altes Muster):

0,34 %	
0,35 %	Mittel: 0,345 %

Die beschriebene Methode arbeitet viel rationeller und rascher als die bekannten Verfahren und gibt ebenso gute Werte. Sie ist als Arzneibuchmethode zu empfehlen.

¹ Bei dieser Methode wurde die Ausschüttelung mit 1%iger Salzsäure so oft wiederholt, bis kein Alkaloid in den Auszügen mehr nachweisbar war.

² Die Methode des D. A. B. 6 haben wir modifiziert, indem wir das Colchicin als solches, nach Abdampfen mit Alkohol bestimmten. Die schon erwähnten Ungenauigkeiten werden dadurch vermieden.

Die Vanillinbestimmung in Vanilleschoten.

Die Früchte von *Vanilla planifolia* Andrews enthalten neben verschiedenen für die Charakterisierung des Aromas nicht bedeutungslosen aromatischen Bestandteilen als Hauptgeruchträger das Vanillin, das seit jeher zur Beurteilung der Droge auf exaktem chemischem Weg auf verschiedene Weise quantitativ bestimmt wurde. Gute Vanillesorten enthalten durchschnittlich 2% Vanillin.

Tiemann und Haarmann¹ fanden:

In mexikanischer Vanille, beste Sorte . . .	1,86 ‰	1,69 ‰
mittlere Sorte	1,32 ‰	
In Bourbon-Vanille, beste Sorte	2,48 ‰	1,91 ‰ 2,9 ‰ 1,97 ‰ 2,43 ‰
mittlere Sorte	1,19 ‰	
geringste Sorte	1,55 ‰ 0,75 ‰	
In Java-Vanille, beste Sorte	2,75 ‰	
mittlere Sorte	1,56 ‰.	

Th. und G. Peckolt² fanden folgende Vanillingehalte:

in Vanille von Goyaz	1,25 ‰	
Santa Catharina	1,34 ‰	
Pará	0,95 ‰	
Rio de Janeiro	1,50 ‰	1,68 ‰.

Nach Busse³ enthielt:

Vanille aus Deutsch-Ostafrika	2,16 ‰	
Ceylon-Vanille	1,48 ‰	
Tahiti-Vanille	1,55 ‰	2,02 ‰.

In neuerer Zeit hat Amoretti⁴ eine Reihe von Vanillinbestimmungen ausgeführt und folgende Werte gefunden:

Bourbon-Vanille	2,70 ‰	
Tahiti-Vanille	3,00 ‰	
Mexikanische Vanille	2,36 ‰	
Réunion-Vanille	2,05 ‰	2,12 ‰
Comoren-Vanille	2,10 ‰	
Madagaskar-Vanille	2,08 ‰.	

¹ Tiemann und Haarmann, Ber. 9, 1288 (1876).

² Th. und G. Peckolt, Hist. d. plantas med. e uteis do Brazil, ref. in

³ W. Busse, Arb. Kaiserl. Gesundheits.-Amt 15, 1 (1898).

⁴ L. Amoretti, Profumi italici 2, 251 (1924), ref. in Schimmel & Co., Bericht 1925, 124.

Übersicht über die neueren Methoden zur Vanillinbestimmung.

Die zur Vanillinbestimmung in Vanilleschoten, Vanille- und Vanillinpräparaten vorgeschlagenen Verfahren lassen sich in folgende Gruppen ordnen:

1. gravimetrische Methoden
2. titrimetrische Methoden
3. gravimetrische Fällungsmethoden
4. titrimetrische Fällungsmethoden
5. kolorimetrische Methoden
6. refraktometrische Methoden
7. gasvolumetrische Methoden.

1. Gravimetrische Methoden.

Heß und Prescott¹ gaben ein Verfahren an zur Trennung von Vanillin und Kumarin aus Vanille-Extrakten. Das Vanillin wird dabei mit Ammoniak als wasserlösliches Additionsprodukt vom Kumarin geschieden. Durch Ansäuern, Ausschütteln mit Äther und schließliches Kristallisieren aus Ligroin wird Vanillin isoliert und zur Wägung gebracht. Ganz ähnlich verfahren Winton und Silvermann² und Winton und Bailey³. Hiltner⁴ reinigt zum Schluß das Vanillin noch durch Sublimation, wobei aber nach Wichmann⁵ Zersetzungen und damit verbundene beträchtliche Fehler eintreten sollen. Zur Vanillinbestimmung in Vanillinzucker haben Sprinkmeyer und Grünert⁶ und Bodinus⁷ äußerst einfache gravimetrische Verfahren vorgeschlagen, die in einer Ätherextraktion und Wägung des Rückstandes nach längerem Trocknen im Exsikkator bestehen. Schmidt⁸ extrahiert die

¹ W. H. Heß und A. B. Prescott, Pharm. Review 1899, 7; ref. in Jahresbericht der Pharm. 1899, 344.

² A. L. Winton und M. Silvermann, J. Am. Chem. Soc. **24**, 1128 (1902).

³ A. L. Winton und E. M. Bailey, J. Am. Chem. Soc. **27**, 719 (1905).

⁴ Hiltner, Bull. des U. S. Bureau of Chem. **152**, 135 (1912); **162**, 83 (1913); ref. in Schimmel & Co., Bericht 1922, 106.

⁵ H. J. Wichmann, Journ. Ass. offic. agric. Chem. **4**, 479 (1921), ref. in Schimmel & Co., Bericht 1922, 106.

⁶ H. Sprinkmeyer und Grünert, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **38**, 153 (1919).

⁷ Bodinus, Pharm. Ztg. **67**, 584 (1922).

⁸ E. Schmidt, Lehrbuch der pharm. Chemie, 6. Aufl., II. Abt. 1209, 1923.

Vanilleschoten mit Äther im Soxhlet und reinigt das Vanillin über die Bisulfitverbindung; ebenso Doherty¹.

2. Titrimetrische Methoden.

Die schon von Welmans² vorgeschlagene Titration des Vanillins mit alkoholischer 0,1 N-KOH und Phenolphthalein als Indikator wurde später von Sacher³ wieder aufgegriffen. Die Untersuchungen von Schimmel⁴ und Meyer⁵ zeigten aber, daß Vanillin als Phenol zu wenig sauer reagiert, um mit scharfem Umschlag titrierbar zu sein. Ebenso ist die maßanalytische Methode von E. Tschirch⁶ unbrauchbar. Der Umschlag tritt hier in wässriger Lösung falsch ein, da Vanillinkalium in Wasser stark dissoziiert. Außer diesen Unzulänglichkeiten sind diese alkalimetrischen Bestimmungen wohl kaum für eine Wertbestimmung von Vanilleschoten verwendbar, da ohne weitgreifende Reinigungsoperationen stets mit verschiedenen Pflanzensäuren zu rechnen ist, die leicht mitbestimmt werden⁷.

Für eine Mikrobestimmung von Vanillinzucker benützt Wohak⁸ das Zeiselsche Verfahren zur Methoxylbestimmung als Grundlage. Das gebildete Methyljodid wird im Apparat von Ripper und Wohak über glühendem Platinasbest verbrannt und das freie Jod mit 0,01 N-Natriumthiosulfatlösung zuletzt titriert. Abgesehen davon, daß dieses Verfahren eine besondere, relativ komplizierte Apparatur notwendig macht, ist es auch nur für Vanillinzucker anwendbar. Bei Mehl und anderen Produkten täuschen weitere methoxylhaltige Verbindungen einen zu hohen Vanillingehalt vor.

¹ Doherty, Journ. and Proc. Royal Soc. of New South Wales **57**, 157 (1913); ref. in Chem. Ztg. **45**, 687 (1921).

² Welmans, Pharm. Ztg. **43**, 634 (1898).

³ J. F. Sacher, Deutsche Parf.-Ztg. **1**, 187 (1915), ref. in

⁴ Schimmel & Co., Bericht 1915, Oktober, p. 55.

⁵ H. Meyer, Monatsh. f. Chem. **24**, 832 (1903).

⁶ E. Tschirch, Seifensieder-Ztg. **48**, 856 (1921), ref. in Schimmel & Co., Bericht 1923, 110.

⁷ A. Tschirch (Handbuch der Pharmakognosie, 2. Bd., II. Abt., 1917, p. 1305) erwähnt folgende Säuren in Vanille: Oxalsäure, Weinsäure, Citronensäure und Apfelsäure.

⁸ F. Wohak, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **42**, 292 (1921).

3. Gravimetrische Fällungsmethoden.

Diese Verfahren basieren auf der ganz allgemeinen Eigenschaft der Aldehyde, mit Hydrazinen, Hydraziden und anderen organischen Verbindungen Fällungen zu geben. Hanuš¹ hat diese Bestimmungsmöglichkeiten eingehend studiert und eine Reihe von Vanillinhydrazonen hergestellt und beschrieben. Er benutzte folgende Verbindungen zur Ausfällung:

Benzoyl-, Diphenyl-, α -Naphtyl-, β -Naphtyl-, Benzylphenyl-, Diphenylendihydrazin und p-Bromphenylhydrazin.

Auf Grund seiner umfassenden Untersuchungen hat Hanuš dann das p-Bromphenylhydrazin zur quantitativen Bestimmung von Vanillin empfohlen. Bei späteren Arbeiten desselben Verfassers² hat sich herausgestellt, daß p-Bromphenylhydrazin zur Wertbestimmung von Vanilleschoten doch nicht sehr geeignet ist. Hanuš machte weitere Fällungsversuche mit Semioxamazid, Oxalsäurehydrazid und m-Nitrobenzoesäurehydrazid. Er schlug folgende Gehaltsbestimmung von Vanille vor:

Etwa 3 g Vanille, in kleine Stückchen zerschnitten, werden 3 Stunden mit Äther extrahiert, wobei eine möglichst kleine Menge desselben (höchstens 50 ccm) in Anwendung kommt. Die ätherische Lösung wird auf dem Wasserbad bei 60° verdunstet, der Rest in einer kleinen Menge Äther gelöst und durch ein kleines Filterchen in einen Erlenmeyer filtriert, gründlich mit Äther gewaschen, wieder verdampft, der Rückstand in 50 ccm Wasser aufgenommen, eine Viertelstunde auf dem Wasserbad von 60° stehen gelassen, bis sich alles Vanillin gelöst hat, kräftig durchgeschüttelt und die so erhaltene Emulsion mit einer heißen Lösung von 0,2 g m-Nitrobenzhydrazid in 10 ccm Wasser gefällt. Der Kolben bleibt noch eine halbe Stunde im Wasserbade, dann 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Bei der Filtration wird zuerst das Fett dreimal mit Petroläther extrahiert und jeweils durch den Goochtiigel filtriert, darauf erst der Niederschlag in den Tiegel gebracht, mit Wasser, dann mit Petroläther nachgewaschen und nach dem Trocknen gewogen.

Dox und Plaisance³ fanden, daß Thiobarbitursäure mit Vanillin eine Fällung gibt und empfahlen die Reaktion für die Gehaltsbestimmung von Vanille-Extrakt.

¹ J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **3**, 531 (1900).

² J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **10**, 585 (1905).

³ A. W. Dox und G. P. Plaisance, Am. Journ. Pharm. **88**, 481 (1916); **91**, 167 (1919), ref. in Ztschr. f. angew. Ch. **30**, II, 252 (1917).

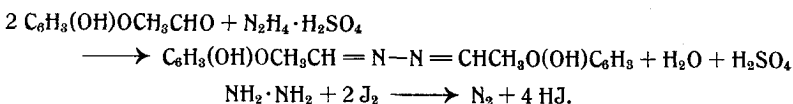
Ein weiterer Vorschlag von Hanuš¹ sei der Vollständigkeit halber noch erwähnt. Vanillin kondensiert mit Platinchlorwasserstoffsäure, wobei aus heißer wäßriger Lösung eine quantitative Fällung entstehen soll. Da Piperonal diese Eigenschaft nicht besitzt, läßt sich Vanillin auf diese Weise neben Piperonal bestimmen. Die von Hanuš ausgearbeitete Methode scheint nie nachgeprüft und aus begrifflichen Gründen von der Praxis nicht adoptiert worden zu sein.

Anläßlich der quantitativen Überprüfung einiger Aldehydreaktionen empfahl Feinberg² die p-Bromphenylhydrazinreaktion von Hanuš und als neues Fällungsmittel p-Nitrophenylhydrazin. Nach Feinberg sind allgemein bei aromatischen Aldehyden die Fällungsmethoden genauer als die Titrationsen.

Nach Wiley³ soll Vanillin wie andere Aldehyde mit Semikarbazid als Semikarbazon bestimmbar sein.

4. Titrimetrische Fällungsmethoden.

Hier ist die von Lautenschläger⁴ angegebene Titration von aromatischen Aldehyden mit Hydrazin zu nennen. Aromatische Aldehyde sollen mit Hydrazinsulfatlösung beim Schütteln quantitativ reagieren. Verwendet man 0,02 N-Hydrazinsulfatlösung, so läßt sich, nach Abfiltrieren der Fällung von Aldazin, das überschüssige Hydrazin jodometrisch bestimmen:



Bei Nachprüfung dieser Methode hat Schimmel⁵ ganz unbefriedigende Werte erhalten. Es zeigte sich, daß der Aldehyd-gehalt um so niedriger gefunden wurde, je geringer die zur Bestimmung gelangende Vanillinmenge war. Dabei blieb die Differenz zwischen angewandtem und bestimmtem Vanillin als

¹ J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **3**, 657 (1900).

² B. G. Feinberg, Am. Chem. Journ. **49**, 87 (1913).

³ H. W. Wiley, Am. Rep. U. S. Dept. Agric. 1910—1911, 472; ref. in Digest of Comments on the U. S. P. 1910, 768.

⁴ L. Lautenschläger, Arch. Pharm. **259**, 81 (1918).

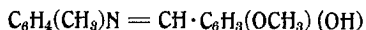
⁵ Schimmel & Co., Bericht 1919, 93.

Verlust konstant, wie die folgende Zusammenstellung von Schimmel zeigt:

Angewandte Menge Vanillin	0,305	0,206	0,104	0,054	0,0250
Gefundene Menge Vanillin	0,277	0,180	0,083	0,026	0,0015
	<hr/>				
Differenz	0,028	0,026	0,021	0,028	0,0235

Rosenthaler und Seiler¹ verwerfen die Lautenschlägersche Titration ebenfalls. Nach ihnen sind die Verluste entweder auf eine geringe Löslichkeit des Aldazins in der sauren Hydrazinsulfatlösung oder auf einen nicht quantitativen Verlauf der ganzen Reaktion zurückzuführen.

Ebenfalls die Kondensationsfähigkeit des Vanillins benutzt Philips² in einer eigenartigen Fällungsmethode. Er kondensiert Vanillin in 80 % iger alkoholischer Lösung mit p-Toluidin und löst das entstandene Produkt von der Zusammensetzung



in überschüssigem Normalalkali. Mit Normalsäure läßt sich dann der Alkaliüberschuß bestimmen. Als Endpunkt bei der Titration gilt das Auftreten einer gelben Trübung, da das freie Vanillyliden-p-toluidin beim Neutralpunkt auszufallen beginnt. Der Körper soll aber in Säureüberschuß löslich sein, wahrscheinlich infolge Salzbildung.

Mit Hydroxylamin fanden Radcliff und Sharples³ zu tiefe Werte, da der Umschlagspunkt mit Phenolphthalein bei der Titration schlecht zu sehen ist.

Die von Bougault und Gros⁴ empfohlene Bestimmung von Aldehyden mit Neßlers Reagens wurde auch an Vanillin ausprobiert, ergab aber nach Radcliff und Sharples³ ganz negative Resultate. Da allgemein Phenolate mit HgCl₂ Verbindungen vom Typus



¹ L. Rosenthaler und K. Seiler, Zeitschr. f. anal. Ch. **62**, 385 (1923).

² Philips, Analyst 1923, 367.

³ Radcliff und Sharples, The Perfumery and Essential Oil Record, **16**, 20 (1925).

⁴ Bougault und Gros, J. pharm. et chim. [7], **26**, 5 (1922).

eingehen, soll die Möglichkeit beim Vanillin bestehen, mit HgJ_2 zu reagieren. Andererseits wird Vanillin leicht oxydiert nach der Reaktion



wodurch Fehler leicht zu verstehen sind.

5. Kolorimetrische Methoden.

Eine Anzahl Farbreaktionen, die Vanillin mit verschiedenen Reagentien gibt, hat zur Aufstellung einer Reihe kolorimetrischer Wertbestimmungsmethoden geführt.

Die von Moerk¹ seinerzeit vorgeschlagene Methode mit Ferrosulfat und Bromwasser wurde von Hubbard² verbessert und auch von Doherty³ empfohlen. In neuerer Zeit wurde sie durch eingehende Versuche von Arny und Ring⁴ als unbrauchbar erklärt und verworfen. Letztere wiesen nach, daß die eintretende Färbung in ihrer Intensität hauptsächlich eine Funktion der Menge der verwendeten Reagentien und nicht der gesuchten Vanillinmenge ist. Sie schlugen das schon früher empfohlene Verfahren von Folin und Denis⁵ vor. Dieses benützt als Prinzip eine Farbreaktion, die Vanillin und andere Phenolderivate mit Phosphorwolfram-Phosphormolybdänsäure-Reagens geben.

Moulin⁶ schlug einen anderen Weg ein. Er führte das Vanillin mit rauchender Salpetersäure in Pikrinsäuremethyläther über und bestimmte letzteren kolorimetrisch durch Vergleich mit einer Testlösung.

Th. v. Fellenberg⁷ fand eine Farbreaktion von Vanillin mit Isobutylalkohol und Schwefelsäure sehr geeignet für eine Wertbestimmung der Vanille. Er hat folgendes etwas umständliches Verfahren ausgearbeitet:

¹ Moerk, Am. Journ. Pharm. **63**, 521, 572 (1891), ref. in

² W. S. Hubbard, Ind. and eng. Chem. **4**, 669 (1912).

³ Doherty, Journ. and Proc. Royal Soc. of South Wales **57**, 157 (1913), ref. in Chem. Ztg. **45**, 687 (1921).

⁴ H. V. Arny und C. H. Ring, Ind. and eng. Chem. **8**, 309 (1916).

⁵ O. Folin und W. Denis, Ind. and eng. Chem. **4**, 670 (1912).

⁶ A. Moulin, Bull. Soc. Chim. Paris [3], **29**, 278 (1903).

⁷ Th. v. Fellenberg, Mittlg. a. d. Geb. d. Lebensm.-Unters. und Hygiene **6**, 267 (1915).

Die zu untersuchende Vanillefrucht wird roh gewogen und in der Weise mit der Schere in mehrere Stücke zerschnitten, daß eine Durchschnittsprobe von ca. 1 g entnommen werden kann. Diese stammt entweder aus der Mitte oder aus zwei oder mehr gleich weit von der Mitte entfernten, ungefähr gleich großen Stücken. Die entnommene Probe wird genau gewogen und auf einer Glasplatte mit einem Messer in Querscheiben von 1–2 mm Dicke geschnitten, die aber noch an einer Stelle zusammenhängen sollen. Beim Zerschneiden hält man die Vanille mit Filtrierpapier fest. Nun bringt man sie in einen kleinen Kolben, wischt Messer und Glasplatte mit dem zum Festhalten benutzten Stück Filtrierpapier gründlich ab und wirft letzteres auch in den Kolben. Man extrahiert nun unter vier Malen mit zusammen 90 ccm Wasser am Rückflußkühler, indem man jedesmal 3–5 Minuten kocht und den etwas erkalteten Auszug durch einen Trichter ohne Filter in einen 100 ccm-Meßkolben gießt. Von der zweiten Extraktion an preßt man die Vanillestücke auf dem Trichter, am besten zwischen zwei Fingern, aus, und spült die Finger mit der nächsten Portion Wasser ab. Zum Schluß knetet man die Vanille mehrmals mit einigen Kubikzentimetern Wasser aus. Der erhaltene braune Auszug wird bei Normaltemperatur zur Marke aufgefüllt, in einen Schüttelzylinder übergeführt und mit 0,5 g Kieselguhr kräftig (am besten etwa 600 mal) durchgeschüttelt und durch ein Faltenfilter filtriert.

50 ccm des Filtrates werden fünfmal mit Äther ausgeschüttelt, indem man das erstemal 50, die übrigen Male 25 ccm Äther verwendet. Der Äther darf nicht etwa Alkohol enthalten. Die ätherische Lösung wird mit etwas CaCl_2 versetzt, nach 5–10 Minuten durch ein trockenes Filter gegossen, mit etwas Äther nachgespült und der Äther unter Zusatz von einigen Siedesteinchen abdestilliert. Nun taucht man den Kolben einen Augenblick in ein siedendes Wasserbad und bläst etwas Luft hinein, um den Rest des Äthers zu entfernen. Dann setzt man zum Rückstand ca. 30 ccm Wasser, wärmt auf etwa 50–60° an, um das Vanillin von den in geringer Menge vorhandenen Wachspartikelchen zu lösen, gießt die Lösung in ein 100 ccm-Meßkölbchen, spült nach und füllt bei Normaltemperatur zur Marke auf.

Als Vergleichslösung (Typlösung) verwendet man eine wässrige Lösung von 0,1 g reinem, umkristallisiertem und bis zur Konstanz getrocknetem Vanillin (Fp. 80–81°) im Liter. Als Reagenz dient eine 1 % ige Lösung von Isobutylalkohol in 95 % igem Äthylalkohol.

5 ccm der zu untersuchenden Lösung werden in einem 100 cm-Meßkölbchen mit 5 ccm der 1 % igen alkoholischen Isobutylalkohollösung versetzt. Dazu läßt man unter Neigen des Kölbchens vorsichtig 20 ccm reine konzentrierte Schwefelsäure zufließen, schwenkt um und läßt $\frac{3}{4}$ Stunden stehen. In gleicher Weise werden 5 ccm der Typlösung in Reaktion gebracht. Nach Ablauf der angegebenen Frist vergleicht man die entstandenen Färbungen im Kolorimeter. Berechnung: Der Vanillin-

gehalt der Vanille beträgt $\frac{4a}{g}$, wobei

a = gefundene Milligramm Vanillin in 5 ccm der Endlösung,
g = Gewicht der angewendeten Vanille in Gramm.

Eine weitere von Estes¹ vorgeschlagene Farbreaktion von Vanillin mit einer sauren Lösung von Mercuronitrat wurde zur kolorimetrischen Vanillinbestimmung neben Piperonal und Kumin von Radcliffe und Sharples² besonders empfohlen.

6. Refraktometrische Methoden.

Hasse³ hat in neuester Zeit Vanillin auf optischem Wege bestimmt, indem er ätherische Vanillinlösungen im Milchfettrefraktometer von Zeiß mit reinem Äther refraktometrisch verglich. Das Verfahren ist nur für Vanillinzucker und ähnliche Präparate brauchbar. Von anderer Seite⁴ wurde statt des flüchtigen Äthers das weniger flüchtige Aceton für derartige Bestimmungen empfohlen.

7. Gasvolumetrische Methoden.

Ein altes von Benedict und Strache⁵ allgemein für Aldehydbestimmungen vorgeschlagenes Verfahren sei noch erwähnt. Die Verfasser kondensieren den quantitativ zu bestimmenden Aldehyd mit einer bekannten Menge Phenylhydrazin und oxydieren, nach erfolgtem Abfiltrieren des Hydrazons, das überschüssige Phenylhydrazin mit Fehlingscher Lösung. Der dabei quantitativ entweichende Stickstoff wird gemessen und daraus das unverbrauchte Phenylhydrazin berechnet. Die Differenz, die dem umgesetzten Phenylhydrazin entspricht, wird auf Vanillin umgerechnet. Nach Schimmel⁶ soll diese Methode bei Benzaldehyd und Kuminaldehyd befriedigende Resultate geben. Sie besitzt aber heute wohl nur noch historischen Wert.

Eigene Versuche für eine Vanillinbestimmung.

Von den vielen Vorschlägen für eine Vanillinbestimmung, die im vorhergehenden Abschnitt kurz referiert wurden, erlangten nur wenige eine praktische Bedeutung.

¹ C. Estes, *Ind. and eng. Chem.* **9**, 142 (1917).

² L. G. Radcliffe und E. H. Sharples, *Perfum. Essent. Oil Record* **16**, 51 (1925), ref. in *Chem. Zentralbl.* 1925, I, 1460.

³ P. Hasse, *Chem. Ztg.* **46**, 233 (1922).

⁴ *Deutsche Parf.-Ztg.* **8**, 98 (1922), ref. in *Jahresber. f. Pharm.* 1922, 342.

⁵ Benedict und Strache, *Monatsh. f. Chem.* **14**, 270 (1893).

⁶ Schimmel & Co., Bericht 1893, 48.

Die gravimetrischen Verfahren haben den großen Nachteil, eine sehr weitgehende Reinigung des isolierten Vanillins zu fordern. Außerdem ist das Kristallisieren und Trocknen des gewonnenen Vanillins bei höherer Temperatur oder im Vakuum wegen seiner relativen Flüchtigkeit mit Schwierigkeiten verbunden, und es ist stets mit Verlusten zu rechnen. Daß die Bestimmungen auf titrimetrischem Wege ganz unzulänglich sind, haben wir bereits dargetan.

Die kolorimetrischen Verfahren besitzen den großen Vorteil, mit sehr wenig Material zu arbeiten. Die Methode von v. Fellenberg benötigt z. B. ca. 1 g Vanille und für einen Kolorimeterversuch am Ende nur 5 ccm der erhaltenen Lösung = ca. 0,025 g Droge, was bei einem Vanillingehalt von 2% nur 0,0005 g Vanillin entspricht. Sehr nachteilig finden wir bei diesen Verfahren, daß besondere Apparate unerlässlich sind und die Bestimmung zu sehr dem subjektiven Urteil des Beobachters preisgegeben ist. Ferner müssen besondere Typlösungen hergestellt werden, deren Haltbarkeit noch sehr zu bezweifeln ist. Harder¹ hat z. B. nachgewiesen, daß die Vergleichslösung von Folin und Denis mit dem Lagern ein viel größeres Vermögen bekommt, eine Färbung mit dem Folinschen Reagens zu geben. Er schlug eine alkoholische Lösung vor, die sich besser halten soll.

Größere Beachtung verdienen die gravimetrischen Fällungsmethoden, und von diesen speziell der Vorschlag von Hanuš, das Vanillin mit m-Nitrobenzhydrazid zu kondensieren. Schimmel² zieht die Hanuš'sche Methode mit β -Naphtylhydrazin oder p-Bromphenylhydrazin vor.

Die in der Literatur oft zu treffende Angabe, daß neben Vanillin noch der nahe verwandte Aldehyd Piperonal in der Vanille vorkommen soll, ist bis heute noch nie bewiesen worden und stützt sich selbst bei den Vanillons und der Tahitivanille nur auf Vermutungen von Busse³, worauf schon Schimmel⁴

¹ O. E. Harder, *Ind. and eng. Chem.* **5**, 619 (1913).

² Schimmel & Co., Bericht 1916, 99.

³ W. Busse, *Arb. Kaiserl. Ges. Amt* **15**, 107 (1898).

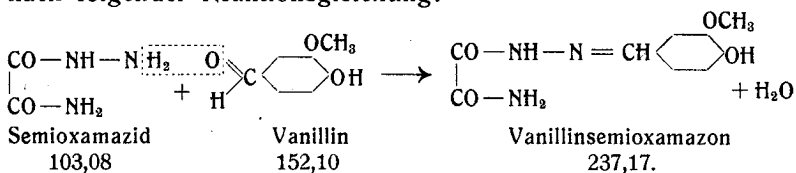
⁴ Schimmel & Co., Bericht 1909, 141.

hingewiesen hat¹. Sie kann uns daher nicht davon abhalten, eine allgemeine Aldehydreaktion zur Vanillinbestimmung heranzuziehen.

1. Versuche mit reinem Vanillin.

Nachdem die Arbeiten von Hanuš² zur Zimtaldehydbestimmung das Semioxamazid eingeführt haben und kürzlich von Eder und Schneiter³ entsprechende Verfahren für Arzneibuchzwecke ausgearbeitet worden sind, haben wir uns zur Aufgabe gestellt, trotz der negativen Angaben von Hanuš⁴, die Frage nochmals experimentell zu prüfen, ob das Semioxamazid wirklich für eine Vanillinbestimmung unbrauchbar ist.

Das von Kerp und Unger⁵ beschriebene Semioxamazid bildet mit Vanillin in wässriger Lösung eine weiße, flockige Fällung nach folgender Reaktionsgleichung:



Das erhaltene Vanillinsemioxamazon ist getrocknet weiß bis schwach gelblich. Es ist in Alkohol etwas, dagegen in heißem Wasser merklich löslich unter Zersetzung. Die Lösung ist gelb gefärbt⁶.

Das für unsere Versuche verwendete Semioxamazid haben wir nach den von Eder und Schneiter gemachten Angaben hergestellt. Bezüglich der Azonbildung mit Vanillin schreibt Hanuš⁴:

„Das Semioxamazid ruft in wässriger Vanillinlösung nach einiger Zeit eine weißliche Trübung hervor, die sich mit der Zeit zu Flocken zusammen-

¹ In neuester Zeit hat Gnadinger [Ind. and eng. Chem. **18**, 588 (1926)] die Anwesenheit von Piperonal einzig bei der Tahitivanille bestätigen können.

² J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **6**, 817 (1903); **7**, 671 (1904).

³ R. Eder und W. Schneiter, Schweiz. Apoth.-Ztg. **63**, 276 (1925).

⁴ J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **10**, 585 (1905).

⁵ W. Kerp und K. Unger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **30**, 585 (1897).

⁶ Nach L. Rosenthaler (Nachweis organischer Verbindungen 1914, 110) bildet Semioxamazid mit Aldehyden Azone, die mit verdünnten Säuren, z. T. auch schon mit kochendem Wasser in die Komponenten gespalten werden.

ballt, welche sich leicht absetzen. Das Verhältnis des ausgeschiedenen Azons zum angewendeten Vanillin zeugt jedoch nicht für einen quantitativen Verlauf der Reaktion.¹

Wir haben zunächst versucht, nachzuweisen, ob und unter welchen Bedingungen die erwähnte Reaktion quantitativ verläuft. Zu diesem Zwecke stellten wir eine Anzahl Versuchsreihen mit reinem Vanillin an. Beim Fällen von Vanillin mit Semioxamazid aus wässriger Lösung ist mit folgenden Faktoren zu rechnen, deren Variabilität einen Einfluß auf die Fällungsreaktion ausüben kann:

s = Menge Semioxamazid, die zur Verwendung gelangt.

v = Menge Vanillin, die zur Bestimmung als Ausgangsmaterial dient.

a = Gesamtmenge Wasser in Kubikzentimetern, aus der das Azon ausgefällt wird. Aus den Werten v und a zusammen läßt sich der Faktor

c = Konzentration des Vanillins in der Gesamtlösung berechnen.

t = Reaktionszeit, also die Zeitspanne, während welcher die beiden Körper aufeinander einwirken können, ausgedrückt in Stunden.

T = Temperatur, die während der Reaktion herrscht.

Sämtliche Bestimmungen wurden nach der folgenden Versuchsanordnung ausgeführt:

v g Vanillin¹, in (a—10) ccm Wasser gelöst, wurden in einem Erlenmeyerkolben von 100 ccm Inhalt mit Glasstopfen mit einer Lösung von s g Semioxamazid in 10 ccm Wasser (die nur noch schwach warm ist, um ein Auskristallisieren des Semioxamazids zu verhüten) versetzt und während t Stunden unter zeitweiligem Schütteln der Reaktion überlassen. Während der Versuche herrschte die Temperatur T. Nach abgelaufener Zeitspanne t wurde durch einen Glasfiltriertiegel filtriert², mit 30 ccm kaltem

¹ Als Ausgangsmaterial diente reines Vanillin, das im Exsikkator zur Konstanz getrocknet war. Fp. 81°. Es wurde teils in wässriger Lösung (0,5 00 g in 100 ccm Lösung), teils jeweils frisch abgewogen in variablen Mengen zur Analyse verwendet.

² Glasfiltriertiegel von Schott & Gen. Jena, Tiegel 10 G 3/5—7 und Tiegel 10 G 3/<7.

Wasser nachgespült, bei 103° zur Konstanz getrocknet und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen.

Der Einfachheit halber und aus später noch zu diskutierenden Ursachen haben wir bei allen Bestimmungen bei derselben Zimmertemperatur $T = 18^\circ$ gearbeitet, so daß dieser Faktor als Konstante außer Betracht fällt. Es ergaben sich also sodann noch folgende Variationsmöglichkeiten:

Serie	s	v	t	a
A a	0,1 g	0,05 g	24 Stunden	x ccm
b	0,1 g	y g	24 Stunden	x ccm
B	0,1 g	0,05 g	x Stunden	30 ccm
C	0,1 g	x g	24 Stunden	30 ccm
D	x g	0,05 g	24 Stunden	30 ccm

Zur Beurteilung der erhaltenen Werte seien noch kurz die Fehler der vorhin erwähnten Methode erläutert und berechnet nach Benedetti-Pichler¹.

Der Prozentgehalt bei einer Gehaltsbestimmung beträgt ganz allgemein

$$P = f \cdot M \cdot \frac{100}{E},$$

wobei M die gewogene Menge Vanillinsemioamazon, E die zur Analyse verwendete Menge Vanillin und f der Umrechnungsfaktor² der Methode ist.

Bei Berechnungen nach dieser Gleichung sind folgende Fehler möglich:

ΔP_1 , verursacht

1. durch einen Wägefehler Δ_E bei der Bestimmung der Menge E des Ausgangsmaterials, wenn Vanillin abgewogen wird, oder
2. durch einen Meßfehler Δ_E , wenn eine Vanillinlösung von bekanntem Gehalt als Ausgangsmaterial dient und v' ccm davon abgemessen werden.

¹ A. Benedetti-Pichler, Ztschr. f. anal. Ch. 61, 305 (1922).

² f berechnet sich nach folgender Gleichung:

$$f = \frac{\text{Molekulargewicht Vanillin}}{\text{Molekulargewicht Azon}} = \frac{152,104}{237,17} = 0,64133.$$

ΔP_2 , verursacht durch einen Wägefehler Δ_M bei der Bestimmung der erhaltenen Azonmenge.

ΔP_3 , verursacht durch einen Fehler Δ_f im Faktor f.

Der maximale Gesamtfehler ΔP tritt ein, wenn sich die drei Teilfehler addieren: $\Delta P = \Delta P_1 + \Delta P_2 + \Delta P_3$.

Die Streuung D beträgt bei einer Versuchsreihe desselben Materials das Doppelte: $D = 2 \cdot \Delta P$.

Δ_E als Wägefehler wurde von uns für die benutzte analytische Wage zu 0,2 mg angenommen, beim Abmessen von $v' = 10$ ccm Vanillinlösung (0,5 % = 0,5000 g in 100 ccm Lösung; E = 10 ccm = 0,0500 g Vanillin) zu 0,1–0,2 mg¹.

Wir konnten also für beide Verfahren einen Durchschnittsfehler $\Delta_E = 0,2$ mg annehmen.

$$\Delta P_1 = P \cdot \frac{\Delta_E}{E} = 0,4 \text{ \%}$$

Wird die Ausgangsmenge variiert, wie dies bei Versuchserie C der Fall ist, so ändert sich natürlich ΔP_1 beträchtlich, wie die folgende Übersicht zeigt:

E	ΔP_1
0,0100	2,0 %
0,0500	0,4 %
0,1000	0,2 %
0,1500	0,13 %
0,2000	0,1 %

Δ_M als Wägefehler bei Bestimmung der erhaltenen Azonmenge wurde auch zu 0,2 mg angenommen.

$$\Delta P_2 = f \cdot \Delta_M \cdot \frac{100}{E} = 0,26 \text{ \%}$$

wenn E = 0,0500 g ist. Bei Serie C ändert sich auch dieser Wert nach der folgenden Zusammenstellung:

¹ Wir wählten für eine Bestimmung bei den Versuchen mit konstanter Vanillinmenge 0,05 g Vanillin, da nach unseren Berechnungen nach einer später noch auszuführenden Methode bei Vanille durchschnittlich ca. 50 mg Vanillin zur Bestimmung gelangen sollten.

E	ΔP_2
0,0100	1,28 ‰
0,0500	0,26 ‰
0,1000	0,13 ‰
0,1500	0,08 ‰
0,2000	0,06 ‰

Δ_f als Fehler im Umrechnungsfaktor ist von der Genauigkeit der Atomgewichtsbestimmungen abhängig und daher bei der heutigen Exaktheit dieser Methoden von keiner Bedeutung für das Endresultat. In unserem Falle berechnet sich f zu 0,64133. Rechnet man praktisch mit 0,6413, so ist $\Delta_f = -0,00003$. Dieser geringe Fehler ist von unbedeutender Größe, wie die folgende Berechnung zeigt:

$$\Delta P_s = \Delta_f \cdot M \cdot \frac{100}{E} = 0,005 \text{ ‰},$$

wenn $E = 0,0500 \text{ g}$ ist.

Der Gesamtfehler ΔP beträgt also für $E = 0,0500 \text{ g}$ $0,4 + 0,26 = 0,66 \text{ ‰}$, die Streuung D_{th} ist $1,32 \text{ ‰}$.

Eine kleine Übersicht mag die Änderung des Wertes ΔP für verschiedene Vanillinmengen (E) zeigen:

Einwage = E	Maximalfehler im Prozentgehalt = ΔP
0,0100	3,28 ‰
0,0200	1,64 ‰
0,0300	1,09 ‰
0,0400	0,82 ‰
0,0500	0,66 ‰
0,0600	0,55 ‰
0,1000	0,33 ‰
0,1500	0,22 ‰
0,2000	0,16 ‰

In den folgenden Tabellen sind die Mittelwerte der verschiedenen Versuchsreihen zusammengestellt.

Versuchsreihe A.

Als Variable wurde die Gesamtflüssigkeitsmenge mit 30 ccm und 60 ccm gewählt (a). In einer weiteren Zahl von Bestimmungen variieren auch die Vanillineinwagen (b).

Tabelle I.

No.	c	1	2	3	4	5	6
		Einwage Vanillin g	Erhaltenes Vanillin g	Zeitdauer in Stunden	Gesamt- flüssigkeit in Kubik- zentimetern	Verlust 1—2 g	Erhaltenes Vanillin in Prozenten von 1
a 1	0,17	0,0500	0,0474	24	30	0,0036	94,8
2	0,08	0,0500	0,0447	24	60	0,0053	89,4
b 3	0,05	0,0151	0,0121	24	30	0,0030	79,9
4	0,15	0,0446	0,0420	24	30	0,0026	94,2
5	0,20	0,0611	0,0589	24	30	0,0022	96,4
6	0,48	0,1455	0,1423	24	30	0,0032	97,6
7	0,66	0,1992	0,1958	24	30	0,0034	98,3
8	0,05	0,0270	0,0156	24	60	0,0114	57,8
9	0,17	0,1000	0,0945	24	60	0,0055	94,5
10	0,23	0,1389	0,1332	24	60	0,0057	95,9

Diese Versuchsreihe zeigt deutlich, daß bei Fällung von Vanillin mit Semioxamazid ein Verlust zu verzeichnen ist, der von der angewandten Menge Wasser abhängig ist. Die Verluste sind nicht, wie sich zuerst vermuten läßt, auf einen unvollständigen Verlauf der Reaktion zurückzuführen, sondern auf die Löslichkeit des Vanillinsemioxamazons in Wasser. Wäre letzteres nicht der Fall, so sollte unbedingt ein Zusammenhang zwischen der Vanillinkonzentration c der Lösung und dem Reaktionsverlauf bestehen, der aber aus den erhaltenen Zahlenwerten nicht ersichtlich ist.

Über die Löslichkeit des Azons konnten wir uns ein Bild machen, indem wir gewogene Azonmengen, wie sie bei den Bestimmungen im Glasfiltriertiegel erhalten wurden, mit bekannten Mengen kaltem und heißem Wasser nachgewaschen haben. Es ergaben sich dabei folgende Werte:

Waschwasser	Azonverlust	Rückstand des Waschwassers nach Abdampfen
30 ccm heiß	0,0107	0,0110
30 ccm kalt	0,0016	0,0014
30 ccm kalt	0,0015	0,0015

Zur weiteren Orientierung wurde fein pulverisiertes Azon mit Wasser 24 Stunden unter häufigem Schütteln mazeriert. 30 ccm der blanken, filtrierten Lösung zeigten beim Abdampfen auf dem

Wasserbad in verschiedenen Parallelbestimmungen folgende Rückstände:

Azonzmenge g	auf Vanillin berechnet g
0,0033	0,0021
0,0029	0,0019
0,0028	0,0018
0,0031	0,0020

Bei Fällungsreaktionen in 30 ccm Lösung ist also mit einer durchschnittlichen Löslichkeit entsprechend 2 mg Vanillin zu rechnen. Ferner wird bei jeder Bestimmung mit 30 ccm Wasser nachgewaschen, was nach obigen Versuchen einen Durchschnittsverlust entsprechend 1 mg Vanillin bedingt.

Der Gesamtverlust beträgt also bei den Versuchen der Serie A durchschnittlich:
 3 mg bei 30 ccm Flüssigkeit,
 5 mg bei 60 ccm Flüssigkeit.

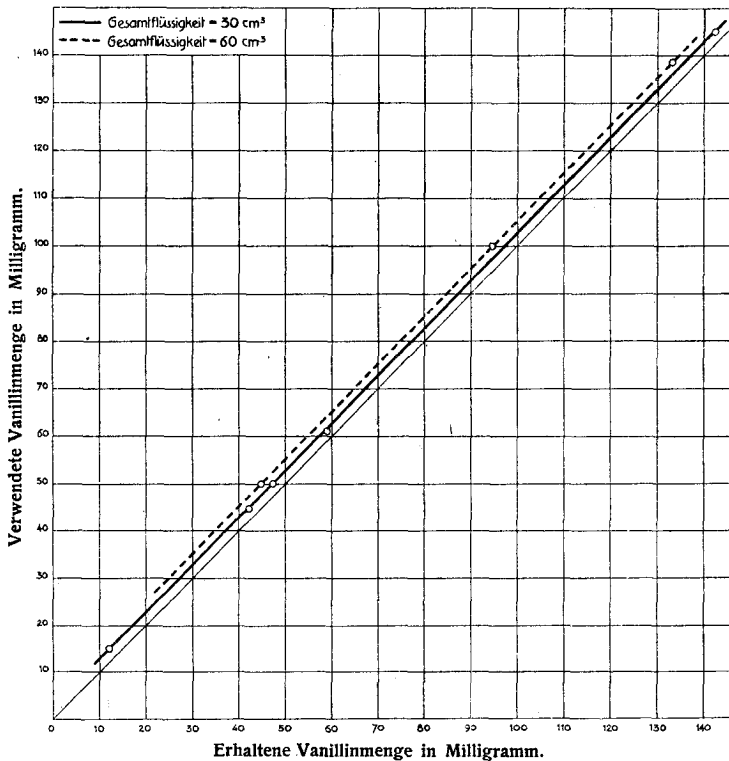
Werden die Analysenwerte mit diesen Korrekturen versehen, so ergibt sich folgende Tabelle:

Tabelle II.

No.	1	2	3	4	5
	Einwage an Vanillin g	Erhaltenes Vanillin g	Notwendige Korrektur g	Korrigierter Wert (2+3) g	Korrigierter Wert in Prozenten der Einwage
1	0,0500	0,0474	0,0030	0,0504	100,1
2	0,0500	0,0447	0,0050	0,0497	99,4
3	0,0151	0,0121	0,0030	0,0151	100,0
4	0,0446	0,0420	0,0030	0,0450	100,9
5	0,0611	0,0589	0,0030	0,0619	101,3
6	0,1455	0,1423	0,0030	0,1453	99,9
7	0,1992	0,1958	0,0030	0,1988	99,8
8	0,0270	0,0156	0,0050	0,0206	76,3
9	0,1000	0,0945	0,0050	0,0995	99,5
10	0,1389	0,1332	0,0050	0,1382	99,5

Die nachstehende graphische Darstellung verdeutlicht die durch Löslichkeit des Azons bedingten konstanten Verluste sehr gut. Auf der Ordinate wurden die Mengen des verwendeten Vanillins, auf der Abszisse diejenigen des erhaltenen Vanillins aufgetragen.

Bei absolut quantitativem Verlauf der Reaktion sollte eine Gerade resultieren, die vom 0-Punkt im Winkel von 45° durch das Achsenfeld verläuft. Es ergeben sich aber für die beiden verschiedenen Flüssigkeitsmengen von 30 ccm und 60 ccm zwei parallel in bestimmten Abstand zur Normalkurve verlaufende Gerade.



Ganz allgemein werden die durch Analysenwerte konstruierten Kurven stets oberhalb der theoretischen Kurve und zu dieser parallel verlaufen, wobei der senkrechte Abstand der verschiedenen Einzelkurven jeweils eine Funktion der Gesamtflüssigkeitsmenge ist.

Versuchsreihe B.

Die zweite Versuchsreihe soll einige Aufklärung über den Verlauf der Fällung geben. Diese tritt nicht sofort ein nach Zusatz des Semioxamazids. Der eigentlichen Ausflockung geht eine

Inkubationszeit (A—B) voraus, worauf die Fällung zuerst rasch einsetzt, um dann asymptotisch einem Endwert zuzustreben (B—C).

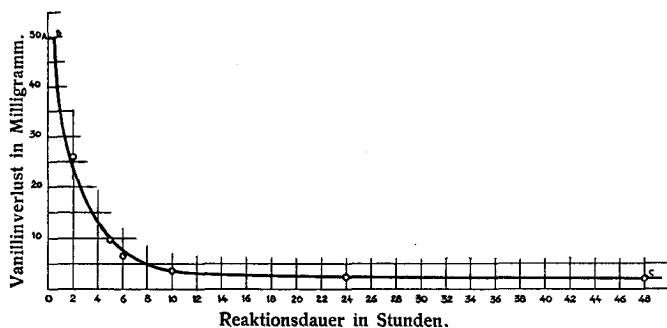
Die Versuchsreihe B zeitigte folgende Werte:

Tabelle III.

No.	1	2	3	4	5	6
	Einwage an Vanillin g	Erhaltenes Vanillin g	Zeitdauer in Stunden	Gesamtflüssig- keit in Kubik- zentimetern	Verlust 1—2 g	Erhaltenes Vanillin in Pro- zenten von 1
11	0,0500	0,0239	2	30	0,0261	47,8
12	0,0500	0,0404	5	30	0,0096	80,8
13	0,0500	0,0423	6	30	0,0077	84,6
14	0,0500	0,0464	10	30	0,0036	92,8
15	0,0500	0,0476	24	30	0,0024	95,2
16	0,0500	0,0479	48	30	0,0021	95,8
17	0,0500	0,0474	72	30	0,0026	94,8

Als Inkubationszeit (= Zeitspanne, die vom Mischen der Vanillin- und Semioxamazidlösungen bis zum beginnenden Ausflocken verstreicht) wurden durchschnittlich 30 Minuten gefunden.

Werden die Vanillinverluste auf der Ordinate eines Achsen-systemes aufgetragen und auf der Abszisse die Reaktionszeit, so ergibt sich folgende Kurve, die bei Konstanz des verwendeten Vanillins und der Gesamtflüssigkeit, also bei konstanter Konzentration c , den Verlauf der Ausflockung darstellt:



Die Bestimmungen ergaben, daß nach 12 Stunden die Fällung bei der genannten Konzentration als beendet zu betrachten ist. Wird c aber geändert, so treten Verhältnisse ein, die durch einige Versuche näher beleuchtet seien.

Tabelle IV.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Einwage g	Erhaltenes Vanillin g	Korrigiert g	Fällungszeit in Stunden	Gesamtflüssigkeit in Kubikzentimetern	Δ 1-2 g	2 in Prozenten von 1	3 in Prozenten von 1	c
18	0,0112	—	—	24	60	0,0112	—	—	0,019
19	0,0112	0,0065	0,0115	72	60	0,0047	63,4	102,7	0,019
20	0,0270	0,0156	—	24	60	0,0114	57,8	—	0,045
21	0,0277	0,0230	0,0280	72	60	0,0047	83,0	101,1	0,046

Eingehender haben wir den Einfluß der Konzentration auf die Ausflockungszeit nicht verfolgt, da für uns die erzielten Anhaltspunkte genügen. Der tiefste Wert c bei den Versuchen der Tabelle I ist 0,05 (Versuche 3 und 8). Diese Konzentration vermag die Fällungszeit noch nicht über 24 Stunden zu verlängern. Versuch 20 in Tabelle IV weist mit einer Konzentration $c = 0,045$ bereits eine längere Fällungsdauer auf. Je kleiner c wird, um so größer werden die Inkubationszeiten, und entsprechend steigen die Werte t, bis eine größtmögliche Fällung stattgefunden hat.

Versuchsreihe C.

Die Werte dieser Versuchsserie haben wir in Tabelle I unter b eingereiht. Aus den dortigen Angaben ist ersichtlich, daß der Aldehydgehalt um so niedriger gefunden wird, je kleiner die mit Semioxamazid zur Reaktion gebrachte Vanillinmenge ist.

Verwendetes Vanillin g	Gefundenes Vanillin %
0,1992	98,3
0,1455	97,6
0,0611	96,4
0,0446	94,2
0,0151	79,9

Wir haben es hier mit einem analogen Fall zu tun, wie er bei der Lautenschlägerschen Titration mit Hydrazinsulfat bereits zitiert wurde (vgl. Seite 75). Auch dort tritt ein ziemlich konstanter, allerdings bedeutend größerer Verlust ein, der wohl auch auf eine nicht unerhebliche Löslichkeit des Hydrazons in der

sauren Lösung zurückzuführen ist. Je kleiner die zur Bestimmung gelangende Vanillinmenge ist, um so größer wird natürlich der prozentuale Fehler, der durch den konstanten Verlust bedingt ist.

Versuchsreihe D.

Es bleibt noch zu untersuchen, ob die Menge Semioxamazid, die zu einer Fällung benutzt wird, von großer Bedeutung ist. Theoretisch genügen für 0,05 g Vanillin ca. 0,03 g Semioxamazid. In der Praxis wird meist mit einem Überschuß gearbeitet¹. Es war für uns von einigem Interesse, wenige Versuche in dieser Richtung anzustellen, da wir einerseits darnach trachteten, die Semioxamazidmenge auf ein Minimum herabzudrücken, und andererseits doch sicher gehen mußten, bei höheren Vanillingehalten nicht falsche Werte zu erhalten. Bei den bisherigen Versuchen hatten wir stets 0,1 g Semioxamazid benutzt. Unter der Annahme, daß überhaupt kein Vanillin vorhanden ist, bleiben 0,1 g Semioxamazid in 30 ccm Wasser beim Stehen während mehrerer Tage bis auf einige Kriställchen gelöst, was wir mehrmals konstatieren konnten. Es deckt sich diese Beobachtung mit der Angabe von Eder und Schneiter², nach welchen 0,3 g Semioxamazid in 100 ccm Wasser gelöst bleiben.

Wir führten Bestimmungen aus, bei denen wir die Menge Semioxamazid von geringem Überschuß bis zur mehr als dreifachen theoretischen Menge variierten.

Tabelle V.

No.	Menge Vanillin g	Menge Semi-oxamazid g	Theoretischer Überschuß an Semioxamazid g	Erhaltenes Vanillin g	Korrigiert g	Vanillin in Prozenten
22	0,0500	0,050	0,020	0,0469	0,0499	99,8
23	0,0500	0,075	0,045	0,0472	0,0502	100,4
24	0,0500	0,100	0,070	0,0471	0,0501	100,2

¹ Hanuš benutzt bei seiner Zimtölbestimmungsmethode die anderthalbfache Menge des verwendeten Öles, während nach Eder und Schneiter für 0,15 g Öl (mit 91 % Aldehyd) theoretisch 0,1 g Semioxamazid ausreichen.

² Eder und Schneiter, Schw. Apoth.-Ztg. 63, 276 (1925).

Die Reaktionszeit war stets 24 Stunden und die Flüssigkeitsmenge 30 ccm.

Die Schwankungen in den Werten liegen bereits innerhalb der erlaubten Streuung, und wir dürfen sagen, daß die variierten Semioxamazidmengen auf das Endresultat ohne Einfluß waren.

Die Ergebnisse der ausführlichen Untersuchungen können wir folgendermaßen zusammenfassen:

Vanillin läßt sich mit Semioxamazid fällen, wobei infolge geringer Wasserlöslichkeit des Vanillinsemioxamazons kleine Verluste eintreten, die bei stets gleicher Versuchsanordnung konstant sind und daher gut korrigiert werden können.

Erst nach Abschluß unserer Vorversuche für eine Vanillinbestimmung fanden wir in der Literatur die Notiz, daß schon einige Zeit früher Radcliffe und Sharples¹ zu ähnlichen Resultaten gelangten. Da einzig die genannten Autoren sich mit der Fällung von Vanillin als Semioxamazon eingehender befaßten und ihre Mitteilungen etwas schwer zugänglich sind, möchten wir bei dieser Gelegenheit die Arbeit kurz besprechen.

Die Verfasser arbeiteten mit verdünnt-alkoholischen und wässerigen Lösungen und bei verschiedenen Temperaturen. Sie fassen ihre Erfahrungen in folgenden Sätzen zusammen:

1. Die Lösung muß möglichst konzentriert sein und in Übereinstimmung mit der Löslichkeit des Semioxamazides².
2. Die Temperatur beim Erwärmen muß möglichst tief gehalten werden, da ein Gleichgewicht eintritt zwischen der Bildung des Azons und der Hydrolyse desselben durch heißes Wasser³.
3. Die Temperatur bei der Filtration muß möglichst tief sein, da das Azon in warmem Wasser merklich löslich ist⁴.
4. Alkohol sollte nicht gegenwärtig sein bei der Bestimmung⁵.

¹ G. Radcliffe und E. H. Sharples, The Perfumery & Essential Oil Record **16**, 160 (1925)

² Aus verdünnten Lösungen fällt das Azon viel langsamer aus, und der Verlust durch die Löslichkeit wird relativ groß.

³ Wir haben bei unseren Versuchen stets bei Zimmertemperatur (18°) gefällt, um die Hydrolyse des Azons möglichst hintan zu halten. Gleichzeitig verlängerten wir aber die Reaktionszeit.

⁴ Die Filtrationstemperatur muß stets gleich sein, damit der unvermeidliche Verlust korrigierbar ist.

⁵ Alkohol ist aus zwei Gründen ganz unzweckmäßig. Er setzt einerseits die Löslichkeit des Semioxamazides herab und erhöht andererseits die Löslichkeit des Azons.

5. Semioxamazid soll im Überschuß verwendet werden¹.
9. HCl- oder H₂SO₄-Salz des Semioxamazides sind nicht zu verwenden, da sie nicht löslich sind in Wasser.
7. Häufiges Schütteln ist nötig, um die Azonbildung zu beschleunigen.

Nach Radcliffe und Sharples soll folgende Methode die besten und am meisten konstanten Resultate liefern:

Ca. 0,3 g Vanillin werden in 60 ccm Wasser bei 50—60° gelöst und zu einer Lösung von Semioxamazid in 25 ccm Wasser von gleicher Temperatur gegeben. Die Mischung wird während einer Stunde auf dem Wasserbad bei 50—60° gehalten, wobei die Temperatur unter 60° bleiben soll. Bei häufigem Schütteln sollte nach 10 Minuten kein Vanillingeruch mehr wahrnehmbar sein. Nach einstündigem Erwärmen wird die Mischung vom Wasserbad genommen und 6 Stunden stehen gelassen. Dann wird durch einen Goochtiegel filtriert, mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser ammoniakalische Silbernitratlösung nicht mehr reduziert, und getrocknet bei 105° während 4—5 Stunden bis zu konstantem Gewicht. Das Gewicht des Niederschlages mit 0,6142 multipliziert gibt das Gewicht an Vanillin².

Nach diesem Verfahren erhält man, wie die Verfasser mitteilen, zu tiefe, aber konstante Werte (93,6—95,3 %). Auf Grund einer Reihe von Bestimmungen geben sie dann einen Korrekturfaktor 1,0637 an, mit dem alle erhaltenen Werte zu multiplizieren sind. Wenn man berücksichtigt, daß mit durchschnittlichen Vanillinmengen von 0,3 g gearbeitet wurde, so dürften die erhaltenen Resultate doch als recht variabel betrachtet werden. Für die bedeutend geringere Einwage von 0,0500 g Vanillin ergab sich nach unserer Berechnung nur eine Streuung von 1,32 %.

2. Versuche mit Vanillefrüchten.

Im weiteren Verlauf unserer Arbeit haben wir die Extraktion der Vanillefrucht und das Reinigen des extrahierten Vanillins eingehender studiert.

Folgende Extraktionsmöglichkeiten wurden ins Auge gefaßt:

¹ Wie unsere Versuche zeigen ist ein geringer Überschuß genügend.

² Der Umrechnungsfaktor 0,6142 ist falsch; er beträgt 0,6413. Bedauerlicherweise ist in der zitierten Arbeit noch ein weiterer Fehler unterlaufen. In der Berechnung eines Versuchsergebnisses heißt es: „0,3626 g Vanillin-semioxamazon = 0,2490 g Vanillin“, was einem Umrechnungsfaktor von 0,6867 entsprechen würde. Bei den weiteren zahlreichen Versuchswerten sind leider die gefundenen Azonmengen nicht mehr angegeben, so daß eine Kontrolle der Berechnungen nicht möglich ist.

1. Ätherextraktion.

Die mit Quarzsand zerquetschte gewogene Vanilleprobe wurde mehrmals am Rückflußkühler mit kleineren Äthermengen (30 bis 40 ccm) warm extrahiert. Der Ätherauszug, der ebensogut auch durch längeres Mazerieren hergestellt werden kann, wurde auf verschiedene Weise weiter verarbeitet.

a) Der Äther wurde auf dem Wasserbad abdestilliert. Es blieb ein gelbbrauner, dicker Rückstand, der wiederholt mit kleinen Mengen warmem Wasser übergossen wurde, die jeweils nach Erkalten durch wenig Baumwolle in einen 100 ccm-Meßkolben filtriert wurden. Die wässrige gelbliche und leicht getrübe Lösung wurde auf 100 ccm ergänzt und ein genau gemessener Teil davon wiederholt (4—5 mal) mit Äther ausgeschüttelt¹. Die filtrierten Ätherauszüge wurden abdestilliert bis auf einen kleinen Rest, der langsam verdampft wurde. Der Rückstand wurde in 20 ccm warmem Wasser gelöst und auf die schon beschriebene Weise (Seite 81) weiterbehandelt.

Bei dieser kurz skizzierten Methode zeigte es sich, daß beim Aufnehmen des Vanillins aus dem schmierigen Rückstand mehr oder weniger große Verluste entstehen. Kontrollversuche mit reinem Vanillin und kleinen Fettzusätzen ergaben folgende Resultate:

Verwendetes Vanillin g	Erhaltenes Vanillin g	Verlust g
0,0556	0,0515	0,0041
0,0648	0,0590	0,0058
0,0752	0,0732	0,0020
0,0799	0,0729	0,0070

¹ Nach Marden [Ind. and eng. Chem. 6, 315 (1914)] beträgt das Verteilungsverhältnis von Vanillin zwischen 100 ccm Wasser und 50 ccm Äther

$$d = \frac{c_1}{c_2} = 0,107.$$

Nach dem Verteilungssatz:

$$\frac{x_n}{x_0} = \left(\frac{d \cdot a}{e + d \cdot a} \right)^n$$

genügen zum Ausschütteln von 45 ccm wässriger Lösung 4 mal je 20 ccm Äther, da

$$\frac{x_4}{x_0} = \frac{1}{705}.$$

Bei 0,1410 g Vanillin beträgt der Verlust also 0,0002 g.

Es ergibt sich als Schlußfolgerung, daß Vanillin mit praktikablen Mengen heißem Wasser nicht quantitativ aus dem fettigen Rückstand extrahiert werden kann. Auch längeres Erwärmen der Fettmasse mit Wasser am Rückflußkühler führte zu Mißerfolgen. Die Schwierigkeiten dieser Extraktion dürften durch die gute Löslichkeit des Vanillins in Fett zu erklären sein. Dieses Vorgehen zeigt noch einen anderen Nachteil. Es werden größere Mengen Wasserlösung erhalten, die für die Fällungsreaktion nicht brauchbar sind. Ein weiteres Ausschütteln mit Äther, das als Reinigungsoperation nicht notwendig wäre, wird dadurch unumgänglich, da ein Konzentrieren der wässrigen Lösung ohne Verlust nicht gelingt.

b) Der Ätherauszug wurde etwas konzentriert (bis auf ca. 20 ccm) und wiederholt mit 2% iger Ammoniaklösung ausgeschüttelt. Aus dem ammoniakalischen Auszug, der sich bei Versuchen mit reinem Vanillin ganz dunkel verfärbt, wurde nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure das Vanillin mit Äther wieder entzogen.

Nach Marden¹ läßt sich Vanillin mit verdünntem Ammoniak sehr leicht aus Äther ausschütteln. Es soll dieses Verfahren dazu dienen, Vanillin von Cumarin und Acetanilid zu trennen.

Wir erhielten aus uns unbekanntem Gründen mit dieser Methode Verluste, wie folgende zwei Bestimmungen zeigen:

Verwendetes Vanillin:	Erhaltenes Vanillin:	Verlust:
0,1022	0,0975	0,0047
0,1052	0,0981	0,0071.

c) Der Ätherauszug wurde auf dem Wasserbad vom Äther befreit, der Rückstand mit 20 ccm heißem Wasser übergossen und das Vanillin direkt in dieser Lösung mit Semioxamazid gefällt. Nachträglich wurden vor dem Abfiltrieren noch größere Mengen Petroläther zugesetzt (30—60 ccm) und durch kräftiges Schütteln die fettartigen Verunreinigungen in Lösung gebracht. Hanuš² ging ähnlich vor bei der Fällung mit m-Nitrobenzhydrazid. Es zeigte sich aber in unserem Falle, daß die erhaltenen Systeme ganz schwierige untrennbare Emulsionen bilden. Ein Abfiltrieren des Azons durch Glasfiltriertiegel war unmöglich.

¹ J. W. Marden, Ind. and eng. Chem. 6, 315 (1914).

² J. Hanuš, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 10, 585 (1905).

Auch ist mit der Gefahr zu rechnen, daß nicht umgesetztes Semioxamazid durch den Petrolätherzusatz aus der wässerigen Lösung gefällt wird, wie wir mehrmals beobachten konnten. Lösungsmittel, die sich mit Wasser mischen, wie Alkohol, Aceton, usw. lassen sich auch nicht verwenden zum Auswaschen des Fettes, da sie das Azon ebenfalls in nicht zu vernachlässigenden Mengen lösen.

d) Die bekannte Bisulfitmethode ist langwierig und infolge der Entwicklung von Schwefeldioxyd unangenehm.

2. *Alkoholextraktion.*

Sie wurde wie die Ätherextraktion durchgeführt, ergab aber bedeutend mehr Extraktivstoff. Zur weiteren Isolierung des Vanillins läßt sich ein Abdestillieren des Alkohols nicht umgehen, da Fällungsversuche, z. B. als Kaliumsalz usw. ganz negativ verliefen. Es entstehen aber infolge der Flüchtigkeit des Vanillins Verluste, wie schon oft konstatiert wurde¹.

3. *Wasserextraktion.*

Es wurde schließlich die von v. Fellenberg² empfohlene Extraktion der Vanille mit heißem Wasser am Rückflußkühler versucht. Die gelbbraunen, getrübten Auszüge läßt Fellenberg durch Schütteln mit Kieselgur und nachherige Filtration klären. Wir hatten mit diesem Verfahren gar keine Erfolge. Eine klärende Wirkung durch Kieselgur konnten wir nicht beobachten, dagegen ein schlechtes Filtrieren der so behandelten Lösungen. Andererseits konnten wir aber die Angabe von Fellenbergs bestätigen, daß die filtrierte Auszüge mit Äther extrahiert nur ganz schwach gelb gefärbte, relativ reine Ätherauszüge liefern. Diese hinterließen beim Abdestillieren, nachdem sie mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet worden waren, einen dickflüssigen, gelbbraunlichen Firnis, der zum Teil kristallisierte. Das Vanillin wurde mit 10 ccm heißem Wasser aufgenommen, wobei sich noch geringe Mengen Fett und Wachs abschieden. Es wurde durch ganz wenig Baumwolle in ein Erlenmeyerkölbchen mit Glasstopfen gegossen

¹ Vgl. Chem.-Ztg. 45, 696 (1921).

² Th. v. Fellenberg, Mittlg. a. d. Geb. d. Lebensm.-Unters. u. Hygiene 6, 267 (1915).

und Kölbchen und Trichter noch zweimal mit 5 ccm heißem Wasser nachgespült. Schließlich wurde im selben Kölbchen noch die Lösung von 0,1 g Semioxamazid in 10 ccm Wasser hergestellt und noch warm durch den gleichen Trichter zur Vanillinlösung gegossen. Dann wurde das verschlossene Kölbchen unter zeitweiligem Schütteln mindestens 12 Stunden stehen gelassen.

Wir erhielten auf diese Weise schöne, fast weiße Azonfällungen, die rein genug sind, um zur Wägung gebracht zu werden. Etwas langwierig ist das Ausschütteln mit Äther, da der trübe wässrige Auszug bei stärkerem Schütteln leicht Emulsionen gibt, die sich aber bei längerem Stehen wieder trennen. Es sind größere Äthermengen zu empfehlen. Auch durch Natriumchloridzusatz lassen sich eventuell entstandene Emulsionen zerstören.

Methode zur Bestimmung des Vanillins in Vanilleschoten

Nach diesen Versuchen über die Extraktion haben wir in Anlehnung an die v. Fellenbergsche Methode folgendes Verfahren ausgearbeitet:

Eine 3—4 g betragende Probe einer Vanillefrucht, die entweder aus dem Mittelstück der Schote oder aus zwei ungefähr gleich großen Endstücken zusammen besteht, wird auf einer Handwage auf zwei Dezimalen genau gewogen¹. Die Probe wird dann auf einer Glasplatte mit einem scharfen Messer in dünne Scheiben geschnitten, die zu einigen größeren Komplexen noch zusammenhängen sollen. Man halte die Frucht mit einem Stück Filtrierpapier, mit dem man nachher Unterlage und Messer abwischt. Die Probe samt dem Papier bringt man in einen kleinen Erlenmeyerkolben und extrahiert 6—7 mal mit je 15—20 ccm Wasser am Rückflüßkühler, indem man jedesmal einige Minuten kocht. Die jeweils erkalteten Auszüge werden durch etwas Watte filtriert. Man preßt die Vanillestücke jedesmal auf dem Trichter mit einem Spatel aus, gibt sie wieder in den Kolben zurück und spült Spatel und Trichter mit der neuen Wassermenge nach. Der erhaltene Auszug wird durch ein

¹ Eine gute Frucht liefert Material für zwei Proben, von denen die eine aus dem Mittelstück, die andere aus den beiden Enden besteht.

Faltenfilter¹ in einen Scheidetrichter filtriert und das Filter mit Wasser nachgewaschen.

Dann schüttelt man 6—7mal mit reichlichen Mengen Äther aus und trocknet die Ätherlösungen mit entwässertem Natriumsulfat. Der filtrierte Ätherauszug wird in kleinen Portionen aus einem Kölbchen auf dem Wasserbade abdestilliert bis auf einen kleinen Rest, den man verdunsten läßt. Der Rückstand wird mit 10 ccm heißem Wasser unter Schwenken gelöst und durch ganz wenig Watte in ein Erlenmeyerkölbchen mit Glasstopfen filtriert. Man spült das Kölbchen noch zweimal mit 5 ccm heißem Wasser nach, löst schließlich darin 0,1 g Semioxamid in 10 ccm heißem Wasser und gießt die noch warme Lösung durch denselben Trichter zur erkalteten Vanillinlösung. Nun läßt man unter zeitweiligem Umschütteln mindestens 12 Stunden stehen. Dann bringt man den Niederschlag auf einen genau gewogenen Glasfiltriertiegel, saugt am Vakuum sorgfältig ab und spült Kolben und Tiegel noch mit 30 ccm kaltem Wasser nach, wobei man zuletzt scharf absaugt. Der Tiegel wird bei 105° zur Konstanz getrocknet und gewogen. Die erhaltene Azonmenge mit 0,6413 multipliziert gibt die Menge Vanillin. Zu dieser werden als Korrektur für die Löslichkeit des Azons hinzuaddiert 0,003 g. Der Prozentgehalt der Droge an Vanillin berechnet sich nach der Formel

$$\frac{[(a \cdot 0,6413) + 0,003] \cdot 100}{G}$$

wobei a = erhaltene Menge Azon,

G = Gewicht der verwendeten Probe Vanille.

Nach der vorstehenden Methode wurde eine Anzahl Bestimmungen ausgeführt. Das erhaltene Azon war nur schwach gelbbraunlich gefärbt. Da die Probeentnahme von Vanille nicht einfach ist, lassen sich keine umfangreichen Kontrollbestimmungen durchführen, im besten Falle zwei Parallelbestimmungen. Zur Prüfung haben wir noch Analysen nach der v. Fellenbergschen Methode und außerdem Versuche mit selbsthergestelltem Vanillinzucker von bekanntem Gehalt herangezogen.

¹ Schleicher & Schüll Nr. 572 ist empfehlenswert.
Schlumpf.

Neue Methode: 1,64 ‰ Mittelstück 2,13 ‰ 2,36 ‰ Mittelstück 2,60 ‰ Mittelstück 2,69 ‰ Enden 1,58 ‰ Mittelstück 1,67 ‰ Enden	} der gleichen Frucht } der gleichen Frucht	v. Fellenbergs Methode: im Mittel 1,65 ‰ Enden — (1,86—2,25) im Mittel 2,03 ‰ ¹ Enden
---	--	---

Die Kontrolle mit Vanillinzucker (Gemisch von Rohrzucker mit 2 ‰ Vanillin) und etwas Fett ergab sehr gute Werte.

Verwendete Menge Vanillinzucker g	Gefundenes Vanillin	
	Gewicht g	‰
3,00	0,0616	2,05
3,00	0,0608	2,02
2,50	0,0497	1,99
2,50	0,0505	2,02
2,50	0,0511	2,04

3. Versuche mit Vanillinzucker.

Vanillinzucker läßt sich auch nach einem stark abgekürzten Verfahren bestimmen, da Rohrzucker als Disaccharid ohne jegliche reaktionsfähige Aldehyd- oder Ketogruppe mit Semioxamazid keine Verbindung eingeht, wie einige orientierende Versuche zeigten.

2,5 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser gelöst, ergaben mit 0,09 g Semioxamazid in 10 ccm Wasser nach 48 Stunden noch keine Fällung.

5,0 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser gelöst, ergaben mit 0,09 g Semioxamazid in 10 ccm Wasser auch nach 96 Stunden noch keine Fällung: Die Lösung ist aber etwas viskos und der Niederschlag dürfte im Falle einer Fällung mit 30 ccm Wasser schwer auswaschbar sein. Für Vanillinzucker mit Vanillingehalten von < 1 ‰ ist also die folgende Methode nicht zu empfehlen, da in diesem Falle mit größeren Mengen Ausgangsmaterial gearbeitet werden muß, um genügend genaue Werte zu erhalten.

¹ Die Unterschiede in den Farbönen waren so gering, daß eine genaue Einstellung am Kolörimeter nicht möglich war und dementsprechend nicht mit Sicherheit gute Werte erhalten werden konnten. In der Beschreibung der Methode ist auch nicht klar zum Ausdruck gebracht, ob das Verdünnen der Farbstofflösungen mit Wasser auf 100 ccm vor oder nach dem dreiviertelstündigen Stehen zu erfolgen hat. Wir haben die hergestellten Färbeprobe nach $\frac{3}{4}$ Stunden auf 100 ccm mit Wasser ergänzt, wobei die Färbung sehr schwach wurde, um nach einiger Zeit an Intensität wieder zuzunehmen. Bei längerem Stehen bildet sich dann eine braune schmierige Abscheidung. Die Wartezeit von $\frac{3}{4}$ Stunden dürfte nach unseren Erfahrungen nicht immer die beste sein.

Methode zur Bestimmung des Vanillins in Vanillinzucker
(Gehalt > 1 %).

3,00 g Vanillinzucker werden in einem Erlenmeyerkölbchen mit Glasstopfen in 20 ccm warmem Wasser gelöst und eine noch warme Lösung von 0,1 g Semioxamazid in 10 ccm Wasser zugegeben. Man läßt unter zeitweiligem Schütteln mindestens 12 Stunden stehen und filtriert dann durch einen genau gewogenen Glasfiltriertiegel ab. Das Kölbchen und der Tiegel werden mit 30 ccm kaltem Wasser gut nachgespült und zuletzt am Vakuum scharf abgesaugt. Dann trocknet man den Tiegel mit Inhalt bei 105° bis zur Gewichtskonstanz und wägt. Die gefundene Azonmenge mit 0,6413 multipliziert ergibt die Menge Vanillin. Zu dieser werden 0,003 g als konstanter Verlust addiert. Der Prozentgehalt berechnet sich nach der Formel

$$[(a \cdot 0,6413) + 0,003] \cdot 33,33,$$

wobei a = erhaltene Azonmenge.

Nach diesem abgekürzten Verfahren wurden mit 2%igem Vanillinzucker folgende Werte erhalten:

1,99 % 2,07 % 2,06 %.

Zusammenfassung.

Wir haben das für die Bestimmung des Zimtaldehydes in Zimtrinde und Zimtöl empfohlene und gut bewährte Semioxamazid auch zur Ermittlung des Vanillingehaltes herangezogen und, nachdem wir die Fällungsverhältnisse des Vanillins möglichst weitgehend aufgeklärt hatten, eine Wertbestimmungsmethode für Vanille und Vanillinzucker ausgearbeitet. Die Methode gibt zuverlässigere Resultate als das ins Schweizerische Lebensmittelbuch aufgenommene v. Fellenbergsche Verfahren und besitzt nicht die Nachteile der kolorimetrischen Methoden.

Lebenslauf,

Ich, Edwin Ernst Schlumpf, wurde am 6. Juni 1900 in Zürich geboren. Nachdem ich in Zürich die Volksschule und das kantonale Gymnasium (Realabteilung) besucht hatte, erhielt ich im Herbst 1919 das Reifezeugnis. In den folgenden Jahren studierte ich an der pharmazeutischen Abteilung der Eidgenössischen Technischen Hochschule mit einem viersemestrigen Urlaub, der zur Absolvierung der obligatorischen pharmazeutischen Praxis in der Apotheke von Herrn Apotheker A. Hauser in Zürich und für ein Studiensemester am pharmazeutischen Institut der Universität Berlin benutzt wurde. In Berlin hatte ich Gelegenheit, Vorlesungen und Kurse der Herren Professoren Anselmino, Gilg, Heffter, Sabalitschka und Thoms zu besuchen. In Zürich hörte ich Vorlesungen bei den Herren Privatdozent Dr. Brentano, Professor Dr. Debye, Professor Dr. Eder, Professor Dr. Ermatinger, Professor Dr. v. Gonzenbach, Professor Dr. Grubenmann, Professor Dr. Jaccard, Professor Dr. Piccard, Titularprofessor Dr. Rikli, Privatdozent Dr. Ruzicka, Universitätsprofessor Saitzew, Professor Dr. Schröter, Professor Dr. Seippel, Professor Dr. Staudinger, Professor Dr. Treadwell und Professor Dr. Winterstein. Im Frühjahr 1924 beschloß ich mein Berufsstudium mit dem pharmazeutischen Staatsexamen. Die folgenden Jahre war ich am pharmazeutischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule als Assistent tätig. In dieser Zeit führte ich die Promotionsarbeit aus.